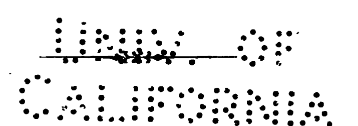


UNTERSUCHUNGEN AUS DEM HYGIENISCHEN INSTITUT IN GRONINGEN.

VERSUCH
einer neuen Bakterienlehre

VON

Dr. A. P. FOKKER,
Director des Instituts.



'S GRAVENHAGE,
DE NEDERLANDSCHE BOEK- EN STEENDRUKKERIJ,
voorheen H. L. SMITS.
1902.

INHALT.

EINLEITUNG . . . . seite

I. DIE ZWEITE HENLE'SCHE HYPOTHESE . . . . „ 7

II. MEINE FRÜHEREN UNTERSUCHUNGEN . . . . „ 11

III. DIE DISSOCIATION DER MILZBRANDBACILLEN . . „ 16

IV. DIE REGENERATION DER MILZBRANDBACILLEN . „ 26

V. DIE MICROSCOPISCHEN ERSCHEINUNGEN . . . „ 33

VI. DIE HETEROGENE ENTSTEHUNG VON MILZBRAND-BACILLEN . . . . „ 37

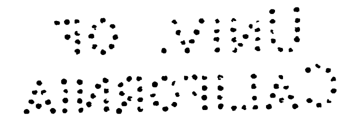
NACHSCHRIFT. . . . . „ 48

EINLEITUNG.

Wenngleich die Entdeckung der Mikroben gewiss zu den grossen Errungenschaften der modernen Wissenschaft zu zählen ist, so muss es doch dem kritischen Beobachter auffallen, dass die neue Wissenschaft nicht das geleistet hat, was die klassischen Untersuchungen Pasteurs, Kochs u A. zu versprechen schienen; und ist es unverkennbar, dass der durch dieselbe veranlasste Fortschritt der medicinischen Wissenschaft der gehegten Erwartung nicht entspricht. Allerwegen erhebt sich Zweifel an den bacteriologischen Doktrinen. Der Glaube an die Grundlagen dieser Wissenschaft ist bei vielen erschüttert und allmählig drängt sich der Gedanke auf den Vordergrund, dass man diese Grundlagen zu übereilt angenommen hat, dass dieselben, zum Theil wenigstens, falsch oder unerwiesen sind.

Es ist meinen holländischen Collegen bekannt, dass ich mich seit 20 Jahren eifrig bemüht habe meinen persönlichen Zweifel an den herrschenden Doktrinen zu betonen. Das that ich nicht aus „Misoneisme", wie Herr Fränkel auf dem Pariser hygienischen Congress meinte, sondern aus „Misoplanisme". Es scheint mir in der Wissenschaft ein natürliches Recht, dass ein Forscher seine Ergebnisse, selbstverständlich mit der erforderlichen Dokumentirung veröffentliche, auch dann wenn dieselben mit herrschenden Meinungen im Widerspruch stehen; und ich bin noch immer der Meinung, dass die Worte, die die Stifter des hiesigen physikalischen Vereins vor einem Jahrhundert zum Wahlspruch erhoben: „Keine Wahrheit hat jemals einer anderen im Wege gestanden" auch für unsere Zeit noch zu gelten hat.

Meine Polemik hat bisher die Ansichten der Fachge-



nossen nur wenig beeinflusst, und doch hatten meine partiellen Veröffentlichungen für mich selbst einen besonderen Werth und waren es Ruhepunkte im Evolutionsprozess, durch den aus meinen abweichenden Meinungen allmählig eine neue Bakterienlehre entstanden ist ([1]).

Diese Lehre, derer Lücken und Fehler ich allerdings eingestehen muss, wage ich jetzt der Öffentlichkeit zu übergeben mit der Bitte, mein Geisteskind, die Frucht einer zwanzigjahrigen emsigen Arbeit, als einen Versuch zu betrachten, der hoffentlich einen berufeneren dazu anregen wird, eine neue Doktrin zu schaffen.

Für diejenigen, an denen die von mir geführte Opposition spurloss vorübergegangen ist, d. h. für den grösseren Theil der Fachgenossen, sollen meine Einwände gegen die herrschende Doktrin hier eine kurze Erwähnung finden.

Es scheint mir *morphologisch* das Fehlen eines Kerns und die directe Theilung der Mikroben gegen die Fassung derselben als selbständige Bionten zu sprechen. Auch ist ihre grosse Variabilität damit unvereinbar.

Chemisch konnte zwar die Unlöslichkeit der Mikroben in Alkalien und Säuren und ihre Unverdaulichkeit durch Pepsin zur Fassung derselben als selbsständige Lebewesen geneigt machen, doch dürfte sich die Bakteriolyse in Caffein- und Caseinlösungen (Gameleia) und sogar in Wasser schwerlich mit dieser Meinung vertragen.

Functionell steht die Unbeständigkeit der pathogenen Wirkung nicht im Einklang mit der Fassung der Mikroben als Parasiten, und namentlich in dieser Hinsicht, muss man sich wundern über die Leichtfertigkeit, womit man solches angenommen hat.

Wenn Einer Sarcoptes hominis als den Parasit der Krätze einführte, und bei dieser Einführung gestand, dass dieser

---

([1]) Wenn ich hier von einer Bakterienlehre rede, dürfte man vielleicht meinen, dass der Ausdruck Bakterienhypothese wohl besser am Platz wäre. Indem ich dies nicht leugne bemerke ich aber dass dieser Vorwurf m. E. ebenfalls die herrschende Lehre gilt. Denn was immer in der Bakteriologie erwiesen sein möge, dass die Bakterien selbständige Lebewesen sind, ist doch sicher uoch nicht zur Thatsache erhoben worden.

Parasit bei gedachter Krankheit gänzlich fehlen könne, dass er gelegentlich auch bei gesunden vorkomme ohne die Krätze zu veranlassen, und sogar sich bei dieser Krankheit durch ein anderes Insekt vertreten lassen könne, würde wohl Niemand einen derartigen Parasitismus im Ernst annehmen. Und doch wird der Parasitismus des Loeffler'schen Bazillus fast ohne Widerspruch angenommen und hält man derartige Absonderlichkeiten aller sogenannten parasitären Mikroben für vollkommen verständlich.

Diese und andere Erwägungen, die ich vor 20 Jahren, als ich mich der geläufigen Doktrin zu entringen anfing, nur ahnte, für welche sich aber allmählig mein Geistesauge geöffnet hat, veranlassten mich schon 1888, eine von der üblichen Auffassung abweichende Meinung über die Natur der Mikroben zu veröffentlichen; die Quintessenz derselben lautete wie folgt:

I. Die Zweite Henle'sche Hypothese.

Es sind in den letzten Dezennien sehr wichtige Thatsachen entdeckt worden und doch ist die Theorie, die man auf denselben aufgebaut hat, wackelig und in der Luft schwebend. Darum scheint es mir nothwendig, dass die Theorie einmal gründlich revidirt und von der Speculation frei gemacht werde. Solches aber ist nur dann möglich, wenn man sich nicht fürchtet eine Strecke zurück zugehen und den Zusammenhang der Deductionen da wieder aufzunehmen, wo man durch die begeisterenden Entdeckungen der Neuzeit von dem richtigen Weg abgewichen ist. Ich habe die Ideen *Henle's* wieder aufzunehmen versucht. Gewöhnlich wird dieser bedeutende Forscher als eine Stütze für die bacteriologische Lehre citirt, aber die Mehrzahl von denen, welche dies zu thun pflegen, hat wahrscheinlich seine Schriften nicht gelesen.

Henle hat die Bakterien nicht gekannt, doch kannte er einige durch Parasiten und Pilze veranlassten Krankheiten. Wie alle umsichtigen Aerzte, die ihm vorangegangen sind, war er überzeugt dass ein Contagium, wenn es kein

Contagium animatum ist, im kranken Körper keiner Vermehrung fähig sein kann. Obgleich er die Vermuthung hegte dass das „materielle Etwas" der Contagien etwas derartiges sein müsste wie das was wir jetzt Mikroben nennen, sind seine Aüsserungen Muster einer gewissenhaften massvollen Deduction.

„Nach den Aufschlüssen über den Pilz der Muskardine, „sagt Henle (¹), liegt es nahe, das Contagium sich mit „einem vegetabilischen Leib zu denken, da die grosse „Verbreitung, die rasche Vermehrung und die Lebens„zähigkeit der niederen mikroscopischen Pflanzenwelt in „der That, die merkwürdigsten Analogien mit dem „Ansteckungsstoff der Infectionskrankheiten zeigt". Und nachdem er von dem ihm unbekannten mikroscopischen Lebewesen ein Bild phantasirt hat das jetzt von uns als zutreffend erkannt werden kann, fährt er fort:

„Aber ein selbständiges Behaupten der Form und „Mischung unter verschiedenen äusseren Einflüssen, ge„setzmässig zeitliche Entwickelung und Fortpflanzung sind „Eigenschaften welche nicht blos dem *ganzen* thierischen „oder pflanzlichen Organismus, sondern im beschränkten „Maasse auch den isolirten Elementargebilden desselben „zukommen. Die Zellen des Flimmerepitelium vibriren „noch Tage lang nach der Abtrennung von dem Orga„nismus dem sie angehören, die Spermatozoen erhalten „noch länger ihre Lebensäusserungen, und wenn man an „derartigen Gebilden eine Vergrösserung und Vermehrung „im isolirten Zustande nicht beobachtet hat, denen sie „ja auch, einmal erwachsen, auf ihrem ursprünglichen „Mutterboden nicht fähig zu sein scheinen, so giebt es „doch Complexe von Elementartheilen, welche nach Ver„pflanzung in einen fremden Organismus mit diesem „fortleben und sogar wachsen. Auf dieser *relativen* Selb„ständigkeit einzelner Organe beruht die Möglichkeit der „Transplantation und es muss ein Theil um so geschickter „zur Transplantation sein je länger er, abgetrennt, sein

(¹) Henle Handb. d. ration Pathologie II 2 S. 480.

„Leben im latenten Zustande zu behaupten vermag. „Offenbar findet in dieser Art eine Mittheilung, eine „wahre Ansteckung von einem Theil des Körpers auf einen „anderen Theil desselben Körpers statt bei den Geschwül„sten welche parasitische genannt werden, weil an ihnen „die Selbständigkeit der pathologischen Gewebe auffiel.

„Mögen nun die Beobachtungen, auf welche hin eine „Contagiosität des Krebses, des Markschwamms u. s. w. „behauptet worden ist Zutrauen verdienen oder nicht, ein „theoretisches Bedenken steht der Annahme nicht ent„gegen, dass ein Stoff, der sich vom einen Körpertheil „zum andern impfen lässt unter günstigen Verhälltnissen „auch einmal mit Erfolg von einem Individuum zum „andern übertragbar sei; es wäre die Ansteckung der „Transplantation eines pathologischen Gewebes gleich zu „setzen das nach der Verpflanzung auf dem neuen Boden „zu wachsen fortführe, und zu der anfänglich erwogenen „Hypothese, dass das Contagium aus *absolut* selbständig „belebten thier- oder pflanzenähnlichen Geschöpfen be„stehe, käme noch eine zweite, wonach wir und dasselbe „vorzustellen hätten als Wesen die ich *relativ* selbständig „belebt nennen möchte, krankhaft gebildete und isolirte „fortpflanzungsfähige Elementartheile des Individuum von „welchem die Infection ausgeht."

Obgleich Henle die erstere Hypothese, für die wahrscheinlichere zu erklären geneigt ist, hat er doch die Frage zu entscheiden nicht gewagt. Von den Gründen welche er für erstere Hypothese anführt, scheint mir der bedeutendste der zu sein, dass die Contagien bekanntlich sehr dauerhaft sind, während abgetrennte Elementartheile der höheren Thiere nur kurze Zeit am Leben erhalten werden können. Doch ist nich zu übersehen dass dieser Grund nur auf Analogie beruht. Mit demselben Rechte hätte man, als zuerst das thierische Ei entdeckt wurde, behaupten können, aus demselben könne sich kein Thier entwickelen, weil keine zu dieser Entwickelung fähigen Körperelemente bekannt waren. Man hätte hier aber übersehen, dass von allen Elementartheilen des Körpers nur dem Ei diese

Eigenschaft zukommen könnte; und ebenso ist es möglich, dass kleinste aus kranken Geweben hervorgegangene Elementartheilchen ungleich länger relative Selbständigkeit ev: latentes Leben behaupten können als alle anderen abgetrennten normalen Körperelemente. In dergleichen Fragen sind Analogien immer sehr gefährlich, und ich könnte z. B. ebenso gut behaupten dass Bakterien keine selbständigen Organismen seien, weil man doch keine Lebewesen kennt, welche, wie die Bakterien, bei 0° (Forster) oder aber bei 70° (Globig) sich zu vermehren vermögen.

Während Henle also die Frage nicht zu entscheiden wagte, hat die jetzige Bakteriologie mit dieser Entscheidung nicht gezögert und ohne Verzug, ja ohne die zweite Henle'sche Hypothese zu erwägen, angenommen, es sei die Vermehrung der Mikroben ausserhalb des Körpers der absolute Beweis für ihre Selbständigkeit, für ihre Stellung als actuelle Bionten. Mir, der ich aus den mitgetheilten Gründen diese Auffassung für irrthümlich halte, erscheint Henle's zweite Hypothese als die wahrscheinlichere, und ich werde für diese Meinung Beweise beibringen.

Nach den Darlegungen des genialen Autors der generellen Morphologie der Organismen, E. Haeckels hat als partielles Bion oder scheinbares physiologisches Individuum zu gelten jeder Theil eines organischen Individuums, der die Fähigkeit hat nach seiner Ablösung von dem actuellen Bion längere oder kürzere Zeit sich selbst zu erhalten und als scheinbares selbständiges Bion seine Existenz unabhängig fortzuführen, ohne sich jedoch zum aktuellen Bion entwickelen zij können (¹) Dass Epitelzellen, Leucocyten und dergleichen partielle Bionten sind unterliegt keinem Zweifel. Es fragt sich nur: Gehören die Bakterien zu den actuellen oder zu den partiellen Bionten? Ersteres wird in der Bakteriologie angenommen, letztere Meinung wurde schon früher von Bechamp und Wigand und auch von mir vertreten.

(¹) Haeckel generelle Morphologie S. 340.

Für denjenigen der die Wichtigkeit dieser Frage bezweifeln möchte, sei bemerkt, dass es von ihrer Entscheidung abhängt, ob man die Bakterien für Parasiten zu halten hat oder nicht. Sind Bakterien actuelle Bionte so sind dieselben Parasiten, sind sie partielle Bionte so sind sie keine Parasiten. Nur im ersteren Fälle ist die Mikrobe die Ursache der Krankheit, im letzteren ist die Krankheit die Ursache der Mikrobe.

II. Meine früheren Untersuchungen.

Schon im Jahre 1887 habe ich versucht die zweite Henle'sche Hypothese zu beweisen. Es hatten zu der Zeit die bekannten von Rosenthal veröffentlichten Meissner'schen Versuche zum Resultat geführt, dass weder im Blute, noch in den Organen eines gesunden Thieres Bakterien existiren. Wo aber Meissner gefunden hatte, dass die aseptisch herausgeschnittenen Organe bei der Brütung keine Veränderungen erlitten, hatten Hauser und Kraus regelmässig Kernschwund gefunden. Meine eigenen Versuchsergebnisse stimmten damit überein. Es erhob sich nun aber die Frage wie dieser Kernschwund zu Stande kommt. Bakterien konnten nicht nachgewiesen werden. Die Organe waren todt und nur noch chemischen und physikalischen Einflüssen unterworfen. M. E. lag es auf der Hand in diesem Kernschwund eine vitale Erscheinung zu sehen und zwar, weil Kraus gefunden, dass derselbe bei 35° ziemlich rasch, doch bei Zimmertemperatur nur sehr langsam erfolgt. War das richtig, war also der Kernschwund als eine Degeneration, als eine mit dem Tode endigende Krankheit der Kerne zu betrachten, dann konnte es keinen Grund geben, wesshalb das Fortleben der Kerne, das sich hier durch eine degenerative Erkrankung kundgab, sich unter anderen Umständen nicht als regenerative Änderung zeigen würde. Es kam nun darauf an, die angemessenen Umstände ausfindig zu machen und ich glaubte, dass ein Versuch das ausgeschnittene Protoplasma zu ernähren vielleicht zu diesem Ziel führen würde. Als ich nun aseptisch ausge-

schnittene Organe, Muskeln, Drüsen, in bestimmten Nährlösungen digerirte, ergab sich die überrasschende Thatsache, dass diese Nährlösungen durch das Protoplasma zersetzt wurden. Aus Stärke entstand Zucker, aus Zucker Säure. Indem auch Muskeln, in denen sich doch keine Enzyme vorfinden, diese Zersetzungen veranlassten, schloss ich: einstweilen liegt der einzige Unterschied, der noch zwischen Protoplasma und Mikroben besteht, in der Vermehrungsfähigkeit letzterer. (¹)

Später habe ich aus Blut und aus Milch Granula erhalten, die ich für Vorstufen von Mikroben hielt, und bei der fortgesetzten Brütung dieser Blutgranula Gebilde entstehen sehen, die sich in Form und Färbbarkeit genau als Bakterien präsentirten. Doch fehlte ihnen die Vermehrungsfähigkeit; es konnten also nur todtgeborene Mikroben sein. Betreffs der Granula aus Milch ist ein etwas genauerer Bericht erforderlich. Dieselben haben mir viel Mühe gemacht. Schon 1893 hatte ich gefunden, dass das klare Filtrat saurer Milch sich bei Erhitzung zu 22° und höher sehr schnell trübt und dass die entstandene Trübung von kleinen, sehr schönen scharf contourirten und färbbaren Granula herrührt. Es konnten diese Granula vielleicht Vorstufen von Mikroben sein, nur gelang es mir nicht das einwandsfrei darzuthun. Den indirecten Beweis dafür zu erbringen bin ich aber jetzt im Stande.

Wenn man sterile Milch mit Milchsäurebacillen impft und dieselbe brütet, so stellt sich die bekannte Gährung ein, die einige Tage anhält. Während derselben wächst die Menge der gebildeten Milchsäure, und bei einer nach 2 Tagen erfolgten Prüfung ergiebt sich dass die Pilzzahl höher und die Säuremenge grösser ist als am ersten Tage. Es bildeten sich also auch am zweiten Tage der Brütung Pilze und Säure.

Wenn man hingegen die Brütung schon nach einem Tage unterbricht, die saure Milch sterilisirt oder pasteurisirt

(¹) Fokker. Untersuchungen ü Heterogese. Groningen. O. Noordhoff I—IV. 1887—1901.

und dieselbe nach dem Erkalten mit den nämlichen Bazillen impft, so vermehren sich letztere nicht und findet keine weitere Zunahme der Säuremenge statt. Daraus geht hervor, dass am zweiten Tag der Brütung der säurescheue Milchsäurepilz sich in der sauren Milch nicht zu vermehren im Stande ist, d. h. nicht in der gewöhnliche Weise durch Spaltung. Die Pilze die sich bei nicht unterbrochener Gährung dennoch in dieser Milch bilden, müssen also auf anderem Wege entstehen.

Es ist mir nun gelungen nachzuweisen, dass diese am zweiten Tage der Gährung entstehenden Pilze sich aus derselben Substanz entwickelen, die im Filtrate der sauren Milch die Entstehung von Granula veranlasst. Näheres in meiner erwähnten Abhandlung wo ich das formulirt habe wie folgt: „Bei „der Brütungstemperatur sondert sich aus „saurer Milch ein flüssiges Protein ab das, wenn die Brütung „nicht unterbrochen wird, bald wieder fest wird. Ist die „Milch pilzfrei so entsteht coagulirtes Casein oder es ent„stehen Granula. *Ist die Milch jedoch in der Gährung „begriffen* (verbesserte Redaction) so combinirt sich dieses „flüssige Protein mit den Elementarkörnchen der Milch „zu embryonalen Pilzen."

Bis jetzt hat mein Bestreben auf die Fehler der jetzige Doktrin hinzuweisen und die Grundlagen der Bakteriologie zu verbessern bei meinen Fachgenossen nur wenig Einstimmung gefunden. Dass ich dennoch auf diesem Wege fortgehe hat zwei Gründe: Erstens meine mit der Zeit wachsende Überzeugung, und zweitens der Umstand, dass sich in der Wissenschaft für meine Auffassung günstige Meinungen rege machen.

Nachdem ich für die zweite Henle'sche Hypothese eingetreten, haben Schmiedeberg und seine Schüler erwiesen, dass allerlei Protoplasma, ohne Mitwirkung von Enzymen, Oxydationen und andere chemische Umsetzungen zu veranlassen im Stande ist.

Wroblewski, Abeles u. A. erkannten, dass die Alcoholbildung durch die Buchner'sche Zymase thatsächlich eine Protoplasmawirkung ist.

Hat sich weiter das neueste und zuverlässigste Mittel, das die Bakteriologen mit Vorliebe zur Differenzirung von Mikroben verwenden, die Agglutination, thatsächlich als eine Protoplasmareaction herausgestellt, eine Reaction auf Mikroben, doch ebenfalls auf Blutkörperchen, Epitelzellen, Spermatozoen, ja sogar auf Eiweissarten und derartigen Produkten.

Schliesslich aber stimmen meines Erachtens die neuesten Ansichten über die Geschwulstbildung zu meinem Begriff über das Wesen der Bakterien. Während ein Theil der Fachgenossen', in der Begeisterung für die bacteriologische Lehre, sich eifrig bemüht den Krebsparasiten aufzufinden und keinen Anstand nimmt dessen Existenz anzunehmen und die Geschwülste für gewöhnliche Infectionsgeschwülste zu halten, erklären Weigert, Ribbert, Lubarsch, u. A. die Geschwulstbildung durch Verlagerung, vor oder nach der Geburt, von normalen Gewebselemente, und diese Erklärung scheint vielen sehr annehmbar. Es hat sich nun bei den von Ribbert, Lubarsch, Saltykow u. A. vorgenommenen Transplantationsversuchen herausgestellt, dass transplantirte Gewebsstücke öfters längere Zeit am Leben bleiben, das bestimmte Zellen dieser Gewebe (Epitel-Knorpelzellen) sich vermehren können und dass die verlagerten Zellen histologische Umwandlungen eingehen, die ihnen eine gewisse Atypie verleihen (Ribbert)

Wer diese Ergebnisse annimmt, wer es für möglich hält dass sich transplantirten Zellen vermehren, den kann es nicht befremden, dass von Andern die Möglichkeit, dass derartiges auch mit Granula geschehe, vertreten wird. Im Gewebsverband vermehren sich beide und erzeugen, jede nach ihrer Art, gleichartige Abkommlinge. Dass die Granula sich in der Zelle vermehren, geht aus dem Wachsthum der Zelle hervor, dass diese Vermehrung vom Zellkern unabhängig ist, ergiebt sich aus dem Wachsen rother Blutkörperchen nachdem sie in ihrer Jugend den Kern verloren haben. Nun sehe ich aber keinen triftigen Grund um es für unmöglich zu halten, dass auch die Granula, nachdem sie aus dem Zellverband freigeworden,

sich vermehren und als Mikroben weiter leben sollten. Diese Ansicht ist zuerst von Buffon, später von Bechamp und Wigand vertreten doch die Bakteriologie hat dieselbe ganz in den Hintergrund gestellt; m. W. ist Max Munden der einzige, der die Zertheilung der Granula microscopisch verfolgt und beobachtet hat.

Dem Anschein nach streift diese Ansicht die Altmannsche Lehre von den Elementarorganismen. Bekanntlich hat Altmann die alte Lehre von den Elementarkörnchen wieder in den Vordergrund zu stellen versucht und ein Verfahren gefunden das die Granula der Zellen, welche man nicht genau kannte und noch nicht nach der jetzigen Methodik untersucht hatte, recht schön darzustellen im Stande war. Die Tafeln die er seiner Arbeit beigegeben sind musterhafte Illustrationen seiner Behauptungen. Nach Altmann sind die Granula die eigentlichen Elementarorganismen, die Zellen Kolonien von Granula, während Bakterien freilebenden Granula sind. Im Gegensatz zu Bechamp und Wigand behauptet Altmann dass, wenigstens in unserer Zeit, die Zellgranula niemals zu freilebenden Granula d. h. zu Bakterien werden können. Sagt er doch „die Elementarkörnchen der Zellen welche noch heute ihre analogen Vertreter in den primären Mikroorganismen haben und welche seit geschichtlichen Perioden in den Zellen existiren, vermögen nicht mehr selbständige Lebewesen zu werden". ([1])

Diese Altmannsche Lehre ist nun von den Zeitgenossen zurückgewiesen, indem man die Zellen als Elementarorganismen handhabte. Per me licet. Dass man die Altmansche Granula, die wahrscheinlich Artefacta, Produkte der Färbungsmethode sind, nicht als Elementarorganismen legitimirt hat, hat für die von mir erhobene Frage keine Bedeutung und der von Virchow vertretene Standpunkt „omnis cellula e cellula" hat nichts zu schaffen mit der Frage, ob die Granula einer Zelle, aus dem Zellverband ausgetreten, überhaupt als partiellen Bionte fortleben können. Ja wenn es erwiesen wäre dass Bakterien Zellen

---

([1]) Altmann Elementarorganismen 2e Aufl. S. 9.

sind! Wo aber dieser Beweis fehlt, wo es wichtige Gründe giebt um Bakterien und Granula für kernlos zu halten und beider Vermehrung eine directe ist, erscheint mir die Identität beider sehr wahrscheinlich und die Entstehung von Bakterien aus freigewordenen Zellgranula auf der Hand liegend.

III. Die Dissociation der Milzbrandbazillen.

Die Suggestion die mich befähigte meine Theorie weiter auszubilden, verdanke ich A. Fischer ([1]) Diesem gebührt das grosse Verdienst, die Bedeutung osmotischer Wirkungen für das Leben der Mikroben nachgewiesen zu haben und hat er erwiesen, dass ein innerhalb einer Mikrobe entstandener Überdruck den Tod derselben veranlassen kann. Nach Fischers Veröffentlichung kann kaum Zweifel daran bestehen, dass die Abnahme der Pilzmenge welche bei der Überführung von Pilzen in anders zusammengesetzte Lösungen fast regelmässig erfolgt (eine Abnahme welche man der Wirkung hypothetischer Alexinen zuschreibt) thatsächlich durch osmotischen Wirkungen veranlasst wird. Indessen ist die von Fischer beschriebene Plasmoptyse nur eine nebensächliche Erscheining, der Überdruck und die zum Tode führende Umwandlung der Mikroben in leeren Gerüste die Hauptsache. Das ist auch Fischers Meinung wenn er behauptet: es sterben viele Zellen bevor Plasmoptyse eintritt (S. 54).

Indem nun Fischer die Folgen der Überführung allerlei pathogener Pilze in Salzlösungen verschiedener Concentration untersuchte, habe ich nur mit Milzbrandbazillen und Wasser experimentirt. Hier waren die Verhältnisse sehr einfach und musste bei der Überführung von Milzbrandbazillen aus der Milz oder aus mit $\frac{1}{2}$ pCt. NaCl bereiteten Agar, nothwendig eine starke Wasseraufnahme erfolgen. Zuerst constatirte ich eine sehr energische Abtödtung der eingesäten Mikroben. Bisweilen war diese so gewaltig

---

([1]) Fischer. Zeitschr. f. Hygiene XXXV.

dass nach der Einführung eines Tröpfchens bacillenreicher Milzsaft in 5 ccm. Wasser, aus einer Öse dieser Verdünnung in Agar keine einzige Kolonie aufging. Gewöhnlich war die Abtödtung weniger energisch und wuchsen in einer sofort gegossenen Agarplatte eine mässige Anzahl Koloniën. Dennoch ergab der Vergleich mit den entstehenden Koloniën, wenn andere Flüssigkeiten zur Verdünnung verwendet wurden, dass auch hier eine bedeutende Abtödtung erfolgt war. Ein einziger Versuch soll dies beleuchten.

Es wurde die Milz einer etwa 24 Stunden nach der Impfung verstorbenen Maus in Rindsserum zerrieben und von dieser Emulsion 1 Tropfen in jedes von drei Reagirröhrchen, jedes 5 ccm. resp. Rindsserum, Bouillon und Wasser enthaltend gegeben. Auf den sofort gegossenen Agarplatten wuchsen:

aus Rindsserum. . . .	4900	koloniën.
„ Bouillon.	3500	„
„ Wasser	1640	„

Gewöhnlich vollzog sich die Abtödtung doch so rasch, dass die nach einer Stunde angelegte Agarplatte entweder steril blieb oder nur spärliche Kolonien ergab.

Im Centralblatt f. Bakteriologie (¹) habe ich mitgetheilt dass nach der anfängliche Abnahme, später, d. h. nach mehreren Stunden resp. Tagen angelegte Plattenkulturen meistens eine mehr oder weniger starke Vermehrung der entwicklungsfähigen Pilzen ergaben. In dieser Hinsicht verhalten sich Milzbrandbazillen in Wasser genau so, wie bei den Versuchen zur Auffindung der sogenannten Alexinen, allerlei pathogenen Pilze in Serum und anderen Nährlösungen, eine Thatsache die das nicht Bestehen dieser Alexinen sehr wahrscheinlich macht.

Ich führe hier einige bei 35° vorgenommenen Versuche sämmtlich mit ganz jungen auf Agar gewachsenen Milzbrandbazillen an

(¹) Fokker, Centralblatt f. Bakteriologie 1ᵉ Abth XXXI.

Nº.	sofort	1—2 St.	3—4 St.	1 Tag.	2 Tage.	3 Tage.
1	721	0	3	10300		858
2	800	31	33	21	290	
3	75	3	—	607		
4	756	60	621	4600		
5	2000	8	—	780	3500	
6	12000	1200	1900	2400	6700	

Bei sämmtlichen Versuchen ergab sich zuerst eine starke Abnahme, später eine Zunahme, doch war der Grad dieser Aenderungen sehr verschieden. Dafür giebt es mehrere Gründe. Gewöhnlich arbeitete ich mit etwa 12 Stunden alten Agarbazillen, ein Material welches anscheinend sehr gleichmässig ist. Dennoch lehrte die Einführung in Wasser, dass, in Bezug auf der Abtödtung und der miscroscopischen Änderungen bedeutende Unterschiede existiren. Die Temperatur bei der die Pilze wuchsen, das Alter der Kulturen, die sogleich nach der Erzeugung erfolgte Untersuchung der Pilze oder die Aufbewahrung derselben während mehrerer Stunden bei anderer Temperatur, die Herkunft der Pilze, alle diese Faktoren beeinflüssen ihr Verhalten gegen Wasser. Noch bedeutender ist die relative Menge der Pilze und wo ich dann und wann bei meinen Versuchen eine starke Abtödtung der Pilze, doch keine nachträgliche Zunahme beobachtete, lag das manchmal nur daran, dass entweder zu viel oder zu weinig eingesät war. Der Einfluss der Pilzmenge geht aus folgenden Versuchen hervor:

Bazillen aus Agar. Wässriger Milzemulsion.

	viel.	wenig.	viel.	wenig.	viel.	wenig.	viel.	wenig.	viel.	wenig.
sofort.	780	273	1046	128	77	39	424	22	1826	1108
1 St.			—	—	154	0	46	0	716	740
3—5 St.	40	42	311	0	—	—	154	1	2450	304
1 Tag.	2480	1140	416	0	1590	0	∞	0	16000	28000
2 „			644	0	∞	—		10		
3 „			610			360		139		
4 „						6100		183		
5 „								158		

Schliesslich weise ich hier darauf hin dass, wo die Rede von Abtödtung war, meistens keine thatsächliche, sondern nur eine scheinbare Abtödtung stattfand. Denn öfters erfolgte, wenn die Agarplatte nahezu steril geblieben, auf der zu gleicher Zeit angelegten Gelatineplatte noch eine starke Entwickelung. Dennoch war auch in Gelatinekulturen die nämliche Erscheinung zu beobachten, zuerst eine Abnahme bisweilen bis zu vollkommener Sterilität, später eine Zunahme. Das ergiebt sich aus folgender Versuchen.

sofort.	700	456	710	15000	1800	5100	27000
nach 1 St.	0	446	57	—	—	—	1320
3 St.	2	1	18	13	101	115	2300
1 Tag.	∞	8	998	9	1600	860	4600
2 „	—	—	—	312		2800	10600
3 „	—	—	—	3540			—

Von diesen Gelatineplatten waren die vier ersteren mit Milzemulsion, die drei letzteren mit jungen Agarbazillen eingesät. Weiter unten werden Versuche mitgetheilt bei denen von demselben Impfstoff Kulturen in Agar und in Gelatine angelegt wurden, aus welchen hervorgeht dass die Entwickelung in Gelatinekulturen um vieles ergiebiger ist. Anfänglich habe ich gemeint dass das an der Temperatur lag bei welcher die Platten digerirt wurden; indessen erfolgte diese verschiedene Entwickelung nicht, wenn zwei Agarplatten, mit derselben Menge Bacillen angelegt und die eine bei 35° die andere bei 20° gebrütet wurde. Es schien auf der Hand zu liegen anzunehmen dass die Pilze nicht abgetödtet sondern nur eine Abnahme ihrer Entwickelungsfähigkeit erlitten hätten und dann müsste Gelatin ein besserer Nährboden sein wie Agar. Das wird jedoch unwahrscheinlich durch andere Versuche bei denen die Entwickelung auf beiden Nährböden die gleiche war. Vorläufig glaube ich aus dieser sonderbaren Erscheinung nur den Schluss folgern zu müssen, das die geläufigen Meinungen über die Entstehung der Pilze den wirklichen Sachverhalt nicht decken. Weiter unten komme ich noch auf diese Erscheinung zurück.

Dass bei meinen Versuche von einer oligodynamischen Wirkung (Ficker) keine Rede sein kann, geht aus einigen Versuchen hervor bei denen eine wässerige Milzemulsion mehrere Tage bei niedriger Zimmertemperatur aufbewahrt wurde: hier ergab sich dass die Abnahme der Pilze bei der nachträglichen Brütung allmählich ausblieb. Es wurden von dieser Emulsion zwei Tropfen in 5 ccm. Wasser gegeben und gebrütet und darauf in der üblichen Weise die Pilzzahl bestimmt. Nach 1 resp. 2 Tagen wurden wieder zwei Tropfen der kalt aufgehobenen Emulsion in 5 ccm. Wasser gegeben und gebrütet.

Das Ergebniss war folgendes:

Abnahme:

Frisch. . . .	1150 bis 65	7140 bis 1450	721 bis 1
1 Tag kalt.	178 „ 115	412—Zunahme	511—Zunahme
2 „ „	— —		508— „
3 „ „	143—Zunahme		

Selbstverständlich wäre eine oligodynamische Wirkung ebenfalls bei den Versuchen mit der aufbewahrten Emulsion erfolgt. Auch an einer Agglutination kann nicht gedacht werden, indem mikroscopisch untersucht und, wo sich ausnahmsweise (bei der Verwendung kalt erzogener Agarfäden) eine Agglutination zeigte der Versuch abgebrochen wurde.

Meine Versuche wurden sämmtlich im Reagensrohr vorgenommen und Erscheinungen die der Fischer'sche Plasmoptyse ähnlich sind, sind mir nur ausnahmsweise vorgekommen. Die Veränderungen, welche ich regelmässig nach der Einführung der Milzbrandbacillen in Wasser beobachtete, bestanden in der Umwandlung der homogen färbbaren Stäbchen resp. Fäden zuerst zu körnigen weniger färbbaren, später zu diffus contourirten unfärbbaren Schatten Taf. I. Fig. 1, 2, 3, 6. Das war das normale microscopische Bild, doch vollzogen sich diese Veränderungen das eine Mal viel schneller wie das andere Mal. Im allgemeinen bestand kein vollkommener Parallelismus zwischen diesen microscopischen Erscheinungen und dem Grad der Abtödtung der Pilze. Es erscheint mir zulässig diese microscopischen Veränderungen dem Austreten des Plasma's zuzuschreiben.

Wenn in einer Zelle ein Überdruck existirt muss dieselbe das Bestreben haben diesen los zu werden. Das kann erreicht werden durch Plasmoptyse, wenn das Plasma durch praeexistirenden Cilienlöcher oder aber durch vom Überdruck veranlasste künstliche Risse ausgetrieben wird. In beiden Fällen finden sich als Producte dieser Entleerung grössere Plasmakugeln vor.

Wo letztere fehlen und die Umwandlung der Bazillen in leeren Gerüsten ohne sichtbare Plasmakugeln erfolgt, muss das Plasma ebenfalls ausgetreten sein. Ob dasselbe flüssig oder in feinster Vertheilung, durch ultramicroscop schen Poren oder aber durch eine porenlose Membran diffundirte dürfte gleichgültg sein. Dass dieses Austreten von Plasma beim Milzbrandbazillus leicht von Statten geht, geht aus deren rassche Veränderung in Wasser hervor. Doch eben bei diesem Bazillus is die Existenz einer Menbran zweifelhaft indem hier viele Merkmale fehlen die bei anderen Mikroben für die Anwesenheit einer besonderen Haut sprechen. Der Bazillus ist bewegunglos hat also keine Geissel, er ist gar nich plasmolysirbar und auch durch Färbemittel kann keine Membran differenzirt werden.

Es empfiehlt sich hier auf die Ähnlichkeit hinzuweisen, die in dieser Hinsicht zwischen Milzbrandbazillen und Blutkörperchen besteht. Beide geben ihren Hauptbestandtheil dem Wasser ab, während von beiden nur kaum erkennbare Gerüste zurückbleiben. Mag dieser Vorgang beim Blutkörperchen rasscher, bei dem Milzbrandbacil langsamer erfolgen, bei beiden ist das Resultat ähnlich. Beide nehmen Wasser auf und es entsteht ein Überdruck in Folge dessen der Inhalt austritt. Dass beide Erscheinungen identisch sind, wird bestätigt durch die Verzögerung resp. Verhinderung dieses Austretens durch Erhitzung. Durch Erhitzung abgetödtete Milzbrandbazillen bleiben bei der Brütung in Wasser monatenlang färbbar und Blutkörperchen verhalten sich ähnlich. Selbstverstandlich kann das nur an Leucocyten beobachtet werden.

Letztere verhalten sich nach Hamburger (1) gegen hypositonischen und hyperisotonischen Lösungen genau wie die rothen. Nach dem mir freundlichst von meinem Collegen ertheilten Rath habe ich Leucocyten aus Pferdeblut in 0.9 pCt. Kochsalzlösung suspendirt und während einer Minute bis auf 100° erhitzt. Dieselben wurden durch Centrifugiren gesammelt und in sterilem Wasser gebrütet. Es ergab sich dass nicht erhitzte Leucocyten bald ihre Färbbarkeit verlieren, erhitzte aber wochenlang dieselbe beibehalten.

Es fragt sich, ob die Ähnlichkeit zwischen Blutkörperchen und Milzbrandbazillen hier aufhört. Ersterem entzieht das Wasser das Hämogloben, letzterem die Substanz von der die Vermehrungsfähigkeit abhängt.

Das Diffusat der Blutkörperchen enthält das Hämoglobin unzersetzt, deren wässerige Lösung kann Sauerstoff aufnehmen und diesen wieder abgeben gerade so wie die Blutkörperchen selber. (2) Geht der Hauptbestandtheil der Milzbrandbazillen ebenfalls unzersetzt in Wasser über? Auf diese Frage wage ich es kaum eine Antwort zu geben. Zwar wachsen aus dem Diffusat öfters keine Kolonien indem hier der Bazillus, die proliferative Form des Milzbrandplasma's fehlt, doch ist er allerdings möglich dass das bazillenfreie Diffusat, wenn in grösseren Mengen Thieren beigebracht, dieselben vergiftet. Das bleibe späteren Versuchen überlassen. Hier bemerke ich nur dass die Untersuchung Beyerincks (3) über Leuchtbacterien und Chlorophyll — resp. Plasmawirkung, für die wasserlöslich-

(1) Hamburger Osmotischer Druck und Ionenlehre I 1902. S. 422.

(2) Im Vorübergehen sei noch bemerkt, dass man im Gerüst der rothen Blutkörperchen das Protoplasma zu sehen pflegt, während man das Hämoglobin Paraplasma nennt, und Mancher fasst die Präposition para als etwas Nebensächliches. Meiner Ansicht nach wären die Namen mit gleichem Recht zu wechseln und hätte man für das Hämoglobin sowie für die Zymase und das Milzbrandplasma den Terminus Protoplasma, für die Gerüste aber den Ausdruck Paraplasma verwenden können. Doch Name ist Hauch und Schall.

(3) Beyerinck Verhand. d. K. Academie d. Wetenschappen Natuurk. Afd. 1902. S. 69.

keit des Plasma's spricht. Es behielt in Beyerinck's Versuchen das im Wasserauszug vorhandene Plasma des weissen Kleees und einiger Meeralgen während einiger Stunden die Fähigkeit den zum Leuchten erforderlichen Sauerstoff durch Zerlegung von Kohlensäure zu erzeugen.

Die beschriebenen Vorgänge berechtigen zu dem Schluss, dass Milzbrandbacillen, aus den gewöhnlichen salzhaltigen Nährmedien in reines Wasser übergeführt, durch osmotische Wirkungen die Entwickelungsfähigkeit einbüssen.

Meine Milzbrandbazillen stammten entweder aus der Milz, deren Saft mit einer 0.92 pCt. Kochsalzlösung gleichwerthig gestellt werden kann, oder aus Nähragar, dessen Salzgehalt bei der Verwendung von ½ pCt. Fleischextract und ½ pCt. Kochsalz etwa 0.65 pCt. betragen muss. In beiden Fällen wurde in salzfreies Wasser übertragen. Der nämliche Vorgang aber ist auch möglich, wenn das Medium worin die Pilze übertragen werden Salze enthält, ja wenn es denselben Salzgehalt wie das ursprüngliche Nährmedium besitzt. Das erweisen die von vielen Forschern mitgetheilten Versuche über Alexinen, bei denen pathogene Pilze aus Blutserum oder aus salzhaltigen Nährmedien in Blutserum übergeführt wurden. Das ist aber leicht verständlich. Alle Forscher, die Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung von Pilzen angestellt haben, fanden deren Salzgehalt höher als den des Nährmediums worin dieselbe erzogen waren. Es fand z. B. Cramer bei Kartoffelkulturen des Bac. prodigiosus den Salzgehalt der feuchten Bazillen 2,1 bis 2,6 pCt., ein Gehalt das den des Kartoffels um vieles übersteigt. Dies lässt zweierlei Deutung zu.

Wenn sich Mikroben in einem Nährmedium vermehren stehen sie, obgleich ihr Salzgehalt dem des Nährbodens gar nicht ähnlich ist, doch mit diesem Nährmedium in osmotischen Gleichgewicht. Es verhalten sich die Bazillen offenbar nicht wie mit Salzlösung gefüllte Bläschen, sondern es muss zwischen ihren Salzen und ihrem Protein eine bestimmte Affinität bestehen, welche der Osmose entgegenwirkt. Dieses osmotische Gleichgewicht entsteht

nicht auf ein Mal, sondern muss sich allmählig durch manche Schwankungen ausbilden und bei diesen Schwankungen müssen partielle Aufnahmen und Verlüste von Bestandtheilen mit einander abwechseln bis sich schliesslich das Gleichgewicht ausgebildet hat. Dass hierbei die Nährflüssigkeit, wenn auch nur geringfügige, Änderungen erleiden muss liegt auf der Hand; es muss sich also beim Übertragen dieser Mikroben in eine neue Portion derselben Nährflüssigkeit nothwendig aufs neue das Gleichgewicht ausbilden.

Doch kann man dieses Verhalten auch anders erklären. Es ist der Aschegehalt eines Mikroben, der des Protoplasmas und des Paraplasmas, in zwei Theilen vorhanden und es liegt auf der Hand, dass der Salzgehalt beider Plasmata verschieden sein kann.

Ich fand einmal in feuchten Mikroben 1,725 pCt. Asche und 85 pCt. Wasser. Im vierten Heft meiner Untersuchungen über Heterogenese theilte ich Untersuchungen über die in Wasser löslichen Bestandtheile der Mikroben, also über die Bestandtheile des Paraplasmas mit. Ich digerirte frische in Agarkulturen gewachsene oberflächliche Koloniën von Milchsäurebazillen in Wasser zu dem einige Tropfen Chloroform zugesetzt waren. Nach ein Paar Wochen ergab sich, dass von diesen Bacillen etwa 40 pCt. der gesammten Trockensubstanz und etwa 25 pCt. der Asche aufgelöst waren.

In den frischen Bacillen fanden sich also, bei einem Aschegehalt von 1.725 pCt.

9 Th. trockenes Protoplasma mit 0.43 Th. Asche und
6 Th. „ Paraplasma mit 1.29 Th. Asche.

Beide müssen je einen Theil der vorhandenen 85 Th. Wasser enthalten haben. Bei der Annahme, dass im frischen Zustande der Wassergehalt beider Plasmata der gleiche war, würde das Protoplasma 51 Th. Wasser, das Paraplasma 34 Th. Wasser enthalten, somit der prozentische Salzgehalt resp. 0.7 pCt. und 3.2 pCt. betragen. Bei dieser Berechnung wäre also die Fischer'sche Plasmoptyse nach physikalischen Gesetzen noch in Flüssigkeiten, deren Salz-

gehalt weniger als 3.2 pCt. beträgt, möglich. Indessen stützt sich diese Berechnung auf einer Hypothese und ist es nicht wahrscheinlich dass das festere Protoplasma, frisch, denselben Wassergehalt hätte als das zähflüssige Paraplasma; letzteres dürfte reicher an Wasser, also ärmer an Salzen sein.

Erstere Erklärung scheint mir die wahrscheinlichere und ich kann nicht umhin es für verständlich zu halten, dass sich bei ein Paar Versuchen Milzbrandbazillen in 2 pCt. Kochsalzlösung ähnlich wie in Wasser verhielten und sich hier dieselben microscopischen Erscheinungen zeigten.

Frische 12 Stunden alte Agarbazillen wurden in 2 pCt. Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Eine Öse ergab in Agar.

Sofort		1380	koloniën
nach $1\frac{1}{2}$	Stunden	2	„
3	„	1	„
5	„	0	„
24	„	33	„
2	Tage	1358	„
3	„	1400	„

Schwieriger verständlich schien mir anfänglich die Thatsache, dass Milzbrandbazillen in 5 ja sogar in 10 pCt. Kochsalzlösungen ähnliche morphologische Degenerationen wie in Wasser erleiden. Dass hier ein osmotischer Überdruck entstehe, ist nicht annehmbar, man würde hier vielmehr das Gegentheil d. h. Plasmolyse erwarten; nur ist wie auch Fischer hervorhob Bac. Anthracis gar nicht plasmolysirbar. Fischer erklärt das aus dem Umstand, dass dieser Bacillus für Kochsalz sehr permeabel sei; ob das ganz richtig ist scheint mir fraglich. Auch bei den Blutkörperchen hat man anfänglich auf indirecten Wege die Permeabilität für bestimmte Jonen angenommen und hat doch schliesslich eingesehen, dass nur die directe Bestimmung den sicheren Beweis liefern kann. Das scheint mir auch für Mikroben erforderlich, doch sind dieselben in dieser Hinsicht noch nicht untersucht. So lange man aber nicht nachgewiesen hat, dass der eine Bacillus in einer Kochsalzlösung in einer bestimmten Zeit mehr pCt.

Kochsalz aufnimmt als der andere scheint es mir nicht erlaubt zu behaupten, dieser sei für Kochsalz mehr permeabel wie jener. An der Permeabilität des Milzbrandbacillus für Kochsalz zweifle ich nicht. Damit stimmt auch die Löslichkeit in schwachen Kochsalzlösungen des ausgetretenen Paraplasmas. Dies kann aber nicht der Grund sein, weshalb diese Bacillen nicht plasmolysirbar sind und ich möchte vielmehr das Fehlen einer Membran für den wahren Grund halten.

In starken Kochsalzlösungen muss das Kochsalz nothwendig in den nackten Bazillen diffundiren und das Paraplasma auflösen. Dass letzteres schliesslich vollständig ausgelaugt wird und das Protoplasma als leeren Schatten zurückbleibt ist m. E. völlig verständlich. Der einzige Unterschied zwischen der Einwirkung von Wasser und schwacher Kochsalzlösungen einerseits und von starken Lösungen andererseits ist, dass in letzteren das Paraplasma ausgelaugt, in ersteren jedoch ausgepresst wird.

IV. **Die Regeneration der Milzbrandbacillen.**

Wie aus der S. 18 mitgetheilte Tabelle hervorgeht erfolgt, nachdem die Bazillen in Wasser sämmtlich oder doch zum grössten Theil zerstört sind, später eine mehr oder weniger ergiebige Vermehrung. Diese Vermehrung, namentlich wenn dieselbe in Wasser stattfindet, hat manches Auffälliges. Woher beziehen diese Mikroben das Material zu ihrem Aufbau? Aus den bekannten Versuchen Meade Boltons (1) scheint hervorzugehen, dass das Material der untergegangenen Pilze dazu verwendet wird. Man weiss dass dieser Forscher Wasserbacterien in zweimal destillirtes Wasser eintrug: es erfolgte eine kolossale Vermehrung. Dann wurde sterilisirt und das sterilisirte Wasser von neuem mit einer winzigen Menge der Bakteriën besät. Das wurde sechsmal wiederholt und jedesmal erfolgte die nämliche ergiebige Vermehrung. Obgleich M. Bolton unbedeutenden

(1) Meade Bolton Zeitschr. f. Hygiene I.

Verunreinigungen, Staubfäserchen etc. die überall anwesend sind, sogar in zweimal mit grosser Sorgfalt destillirtem Wasser, erwähnt, nimmt er doch an „die abgestorbenen „Individuen stellen immer wieder verwerthbares Material „zur Verfügung." Wer sich dieser Annahme anschliesst dem kann nur die Thatsache auffallen, dass derartiges auch möglich ist bei pathogenen Pilze, von denen man früher glaubte, dass sie eine viel reichere Nährung wie die Wasserbacteriën bedürfen. Wenn vielleicht, die richtige Erklärung etwas anders zu lauten hat, so könnte man doch für den Augenblick diese Erklärung annehmen und sich der viel wichtigeren Frage zuwenden, ob die von mir constatirte nachträgliche Vermehrung, der Spaltung praeexistirender Milzbrandbazillen oder aber einer heterodoxen Entstehung ihr Dasein verdankt. Fischer behauptet: Beim Milzbrand findet eine osmotische Selection statt, nur die Individuen mit schwächerer Zellwand verfallen der Plasmoptyse" ([1]). Es ist kaum zu läugnen, dass diese Behauptung auf der Hand liegt, und doch würde es schwer zu beweisen sein. Möglich ist es allerdings, dass, wo man aus einer einzigen Öse des Wassers, worin Milzbrandbazillen untergegangen sind, keine Koloniën züchten kann, die Platten ebenfalls steril bleiben würden wenn man grössere Partien zur Einsaat verwendet hätte. Das wäre nur zu beweisen indem man das ganze Wasser zur Plattenkultur verwandte, doch würde in diesem Falle eine nachträgliche Vermehrung nicht zu constatiren sein. Dennoch ist es unwahrscheinlich dass, wenn aus mehreren Millionen Mikroben ein Theil sich dem Wasser anpasste, dieser Theil nur aus einigen wenigen Individuen bestände.

Ich wage es nicht einem einzigen Versuch, entscheidende Beweiskraft zuzuschreiben. Die Möglichkeit ist nicht zu verneinen, dass es in einer Pilzmenge mehr resistente Individuen giebt, es ist sogar wahrscheinlich, dass es eben diese sind, welche die Einbringung in Wasser überleben könnten. Doch müsste sich in diesem Falle in

([1]) Fischer a. a. O. S. 26.

2 oder 3 Tropfen einer Kultur etwa die 2 resp. 3 fache Menge dieser resistenteren Individuen vorfinden. Dass solches indessen wenigstens nicht nachweisbar sein kann, darf aus diesem Versuch geschlossen werden, wobei ich drei Reagirröhrchen jedes mit 5 ccm. Wasser mit 1, 2 und 4 Tröpfchen einer frisch bereiteten Milzemulsion beschickt und dann gebrütet habe:

	A. 1 Tropf.	B. 2 Tropf.	C. 4 Tropf.
Sofort.	840	1150	3000
Nach $1\frac{1}{4}$ St.	21	452	34
4 „	13	65	30
24 „	1640	3270	2360

Der Berechnung nach würde hier B ein Plus, C ein Minus der angeblich resistenteren Individuen aufweisen.

Wie dem auch sei, es liegt hier die Vorstellung einer heterodoxen Entstehung auf der Hand und, wenn Fischer thatsächlich überzeugt gewesen wäre, dass es sich hier um eine osmotische Selection handelt, so hätte er ja nicht geschrieben:

„Fehlen in der Lösung, worin die Plasmoptyse entsteht „alle Nährstoffe so ist der Tod der Bakterien als auch der „ausgestossenen Protoplasmakugeln unvermeidlich. Die „Plasmakugeln quellen allmählig wie alles in Wasser aus„gestossene Plasma selbst bis zum 5 bis 10 fache ihres „ursprünglichen Durchmessers auf und lösen sich endlich „ganz. Das Schicksal der Kugeln kann ein anderes sein „wenn sie zur rechten Zeit Nährstoffe bekommen. Die „erste Bedingung für ein weiteres Fortleben des aus„gestossenen Protoplasmas würde die Bildung einer neuen „Zellmembran sein, denn ohne sie ist das auf Membran„schutz eingerichtete Protoplasma der Bakterien nicht „lebensfähig. So lange nicht mit voller Gewissheit fest„gestellt ist, ob die Bacterien einen echten Zellkern haben „oder nicht, wird es nicht möglich sein die Erfahrungen „an anderen kernhaltigen Zellen auf die Bakterien anzu„wenden. Hätten die Bakterien einen Kern dann musste „man aus Analogie vermuthen, dass nur dann die Plasma„kugeln mit neuer Membran sich umkleiden könnten,

„wenn der Zellkern mit ausgestossen ist. Wenn die Bak-„terien keinen Zellkern haben, so fehlt zwar jede Analogie „das Schicksal der ausgetretenen Plasmakugeln voraus-„zusagen, es wäre aber dann wohl zu erwarten, dass sie „in geeigneter Lösung neue Membran bilden und nach „ausreichender Kräftigung wieder zu neuen Individuen „von normaler Gestalt auswachsen würden" ([1]).

Dieser Darstellung Fischers schliesse ich mich insofern an, das ich keinen Grund sehe, weshalb sich aus dem ausgetretenen Plasma keine neue Pilze bilden könnten. Auch wenn man mit Bütschli die eventuelle Membran als eine äusserste, fester gewordene aber auch chemisch veränderte Plasmaschicht betrachtet, ist diese Meinung zülässig. Nur möchte ich constatiren dass Fischer hier faktisch für eine heterodoxe Entstehungsweise von Bacillen eingetreten ist.

Bei meinen Versuchen, wo keine Plasmakugel austreten, ist dieser Vorgang natürlich ausgeschlossen weil das ausgetretene Plasma sich mit dem Wasser gemischt hat, letzteres also als eine verdünnte Plasmalösung betrachtet werden kann. Dennoch scheint es mir möglich, dass dieses zertheilte Plasma sich an der Neu-entstehung von Bacillen betheilige. Man kann sich vorstellen, dass sich aus diesem gelösten Plasma Granula verdichten und aus diesen Granula wieder Bacillen hervorgehen, oder aber, dass nachdem sich ein osmotisches Gleichgewicht ausgebildet hat, das Plasma allmählig wieder von den Gerüsten aufgenommen wird. Letztere Vorstellung scheint mir richtig, den experimentellen Beweis aber bringe ich hier bei.

Ich stellte eine grosse Anzahl Versuche an indem ich Milzbrandbacillen in steriles destillirtes oder Leitungswasser gab und bei 35° oder aber bei Zimmertemperatur brütete. Obgleich bei einigen Versuchen die Bacillen einfach vernichtet wurden, ergab sich doch bei der Mehrzahl eine nachträgliche Vermehrung. Bei beiderlei Versuchen, bei 35° und bei 20° musste es unentschieden bleiben,

---

([1]) Fischer a. a. O. S. 25.

ob diese Vermehrung eine orthodoxe oder eine heterodoxe war. Das würde jedoch nicht der Fall sein, wenn ich die Versuche vornahm bei einer Temperatur, bei welcher keine orthodoxe Vermehrung der Milzbrandbazillen möglich ist.

Nach Baumgarten (¹) hören Milzbrandbazillen unter 12° auf zu wachsen und nach Flügge (²) ist unter 12—14° im allgemeinen kein Wachstum zu erzielen. Wenn es also geläng die übliche nachträgliche Vermehrung unter 12° zu erhalten, so würde das ein Beweis für die heterodoxe Entstehung ergeben. Ich habe nun mehrere Versuche bei niederen Temperaturgraden vorgenommen, und zwar in einem Brutschrank mit Leitungswasserdurchspülung worin ein Maximal- und Minimalthermometer die Schwankungen der Temperatur angab. Der Zufall wollte, dass während dieses Frühlings die Lufttemperatur längere Zeit constant war und mehrere Versuche bei dieser Temperatur vorgenommen werden konnten.

Es ergab sich, dass eine so niedere Temperatur für die Neuentstehung der Milzbrandbacillen nicht besonders günstig ist, doch gelang es mir bei zwei Versuchen das gewünschte Ergebniss zu erreichen.

Versuch bei 10°—11°.

Milzbrandbazillen aus einer Bouillonkultur von einem Tag in Leitungswasser. Keine Sporen. Agarplatten ergaben:

Sofort	218
Nach 5 Stund	**26**
1 Tag	170
2 „	297
3 „	242
4 „	234
5 „	329
6 „	15
7 „	16
8 „	21
9 „	21
10 „	23

Versuch bei 10°—10½°

(¹) Baumgarten, Lehrb. d. path. Mykologie 1890 S. 432.
(²) Flügge, die Mikroorganismen 1896 II. S. 222.

Milzbrandbazillen aus einer 12 stündigen Agarkultur in Wasser

	Sofort	12900
Nach	5 Stund	57
	1 Tag	61
	2 „	65
	3 „	94
	4 „	13
	5 „	20

Bei 10 anderen Versuchen dieser Art blieb die nachträgliche Vermehrung aus oder es hatte sich, während des Versuchs, die Temperatur über 11° gehoben. Doch finde ich eine Bestätigung des positiven Befunds in der Thatsache, dass bei in gewöhnlicher Bouillon gesäte Milzbrandbacillen, welche neben den Wasserkulturen im Schrank gehalten waren, sich auch keine Vermehrung zeigte obgleich hier die Anwesenheit von Nährstoffe die orthodoxe Vermehrung befördern müsste.

Vier Bouillonversuche, der fünfte wurde mit Nährstoff Heyden vorgenommen, ergaben:

Sofort.	25	500	6500	9700	735
1 Tag.	0	13	1800	107	2
2 „	0	6	1510	28	0
3 „	0	15	—	20	0
4 „	0	24	676	1	1
5 „		12			0
6 „		25			
7 „		22			
8 „		5			
9 „		0			

Versuche mit Wasser bei 13—14° ergaben wenig bessere Resultate doch war hier natürlich die orthodoxe Vermehrung nicht ausgeschlossen. Aus denselben geht nur hervor, dass diese niedere Temperaturen auch für die heterodoxe Vermehrung wenig geeignet sind. Es versteht sich dass die Möglichkeit nicht ausgeschlossen ist, dass sich an der, bei Versuchen bei höheren Temperaturgraden gewöhnlich erfolgenden, nachträglichen Vermehrung der Pilze beide

Vermehrungsweisen betheiligen und solches sogar regelmässig geschehen kann.

Es scheint mir aus dem Angeführten hervorzugehen, dass es sich hier hauptsächlich um eine Regeneration der dissoziirten Milzbrandbazillen handelt. Wenn, nachdem sich das osmotische Gleichgewicht ausgebildet hat, die Affinität zwischen Proto- und Paraplasma, sofern beiden am Leben geblieben sind, sich wieder geltend macht, erfolgt eine Association und bilden sich wieder vermehrungsfähigen Pilze. Es verträgt sich dieser Sachverhalt nicht mit der Auffassung dieser Mikroben als selbständige Lebewesen, es ist aber nur die Frage ob dieser Begriff richtig ist.

Der Dissociation fähige partielle Bionten sollen nicht als etwas nie dagewesenes dahingestellt werden. Hat doch A. Schwartz gefunden dass Leucocyten, so wie Stromata rother Blutkörperchen das Vermögen besitzen Hämoglobin zu zerstören und es dann wieder zu regeneriren. Schwarz schrieb: „Diese Prozesse errinnern an Dissociationsvor„gänge in welchen es ja auch darauf herauskommt, dass „Zersetzungen welche unter gewissen Umständen eintreten, „schliesslich doch wieder zur Regeneration der ursprüng„lichen Verbindungen führen." (1)

Es sei hier betont dass die Arbeit A. Schwartz mir erst bekannt wurde als die meinige schon verfasst war. Ich habe also nicht unter seiner Suggestion gearbeitet und darf in seiner Arbeit eine Bestätigung meiner Ansicht erblicken. Vielleicht hat Nägeli als er seine Anpassungslehre veröffentlichte dieselbe Idee bereits geahnt.

Diese Dissociation der Mikroben ist nun der Kern meiner neuen Bakterienlehre, die manches zu erklären im Stande ist, was durch die geläufige Lehre nicht erklärt werden kann, und zwar besonders die morphologische und functionelle Variabilität der Mikroben.

Wo sich in einer indifferenten Flüssigkeit eine einzige Mikrobenart (s. v. v.) vorfindet, entstehen nach der Disso-

---

(1) A. Schwartz ü. d. Wechselbeziehung zwischen Hämoglobin und Protoplasma, G. Fischer Jena 1888.

ciation Mikroben der gleichen Beschaffenheit; das beweisen meine Versuche mit Milzbrandpilzen in Wasser.

Wo sich aber zwei oder mehrere Arten vorfinden und sich die dissoziirten Plasmata vermischen, bilden sich bei der Regeneration aus diesem Gemisch Mikroben, die die Eigenschaften der ursprünglich anwesenden in sich zu einer Einheit combiniren, also von jeder der eingesäten einzelnen Arten verschieden sind.

Auch ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass bei der Dissociation in einer Nährlösung, welche Bestandtheile enthält, die im Substrate in welchem die Mikroben erzogen sind fehlten, diese Bestandtheile auf das dissoziirte Plasma einwirken, sodass letzteres Veränderungen erleidet welche sich in den Eigenschafte der aus diesem Plasma regenerirten Mikroben kundgeben.

Indessen verzichte ich auf eine weitere Erörterung der Vorzüge meiner neuen Lehre, bis ich den vollständigen Beweis für dieselbe erbracht haben werde.

V. Die microscopische Erscheinungen.

Es lässt sich bei der Einwirkung des Wassers auf Milzbrandbacillen kein typisches Verhalten erkennen. Typisch sind die Änderungen, welche die Bacillen erleiden, keineswegs. Nirgendwo tritt die grosse Verschiedenheit der Kulturen dieser Mikrobe so auf den Vordergrund als hier und nur selten gelingt es zwei Kulturen zu züchten, welche sich gegen Wasser ähnlich verhalten. Die Beschaffenheit der Aussaat, die Dauer der Brütung, die Zeit die zwischen Brütung und Untersuchung vergangen ist, last not least die relative Menge der in 's Wasser gegebenen Pilze, das Alles beeinflusst die Veränderungen und Umwandlungen welche die Bacillen im Wasser erleiden. Daraus geht hervor, dass die hier mitzutheilende Ergebnisse nicht an jeder beliebigen Kultur beobachtet werden können und dass Einer, wer meine Versuche nachprüfen will, darauf rechnen muss, dass das eine mühevolle Arbeit sein dürfte.

In den meisten Fällen ist die erste Erscheinung, die sich schon in der ersten Stunde erkennen lässt, eine Abnahme der Färbbarkeit und werden die Bacillen auch mehr oder weniger körnig. Diese Erscheinungen vermehren sich und schon in einigen Stunden, mitunter auch später, haben die Bacillen, zum Theil oder stellenweise, das Vermögen Färbstoffe aufzunehmen verloren und sind dieselben nur noch als kaum erkennbare Schatten vorhanden. Taf. 1. Fig. 1, 2, 3. Gewöhnlich zeigt aber nur ein Theil der Bacillen diese Veränderungen während ein anderer Theil viel länger in dem Zustand verminderter Färbbarkeit verharrt. Nicht selten zerfallen die Bazillen in einzelne Glieder, deren Färbbarkeit allmählich abnimmt, während die Ecken abgerundet und die Contouren weniger scharf, zuletzt ganz verschwommen werden. Taf. 1. Fig. 5, 6. Bei Versuchen, wobei die nachträgliche Zunahme der durch Kulturen nachweisbaren Pilze ganz ausbleibt, werden sämmtliche Bacillen resp. Glieder allmählig unfärbbar und in fast unsichtbare Gerüste resp. Detritus umgewandelt. Mitunter bleiben auch hier einzelnen feineren Körner zurück, die, nachdem die Bacillen verschwunden sind noch Färbstoffe aufnehmen.

Bei Versuchen wobei eine nachträgliche Zunahme erfolgt ist diese Degeneration gewöhnlich weniger ausgesprochen und bleiben die zu Schatten gewordenen Bacillen noch stellenweise resp. in einzelnen Gliedern schwach färbbar.

Es wäre indessen falsch wenn man aus dieser partiellen Färbbarkeit schliessen wollte, die Bacillen seien auch reproduzirbar; denn bei absichtlich vorgenommenen Versuchen habe ich gefunden, dass Bacillen, welche ihre Vermehrungsfähigkeit ganz eingebüsst hatten, sich öfters noch theilweise färben liessen.

Es scheint diese Degeneration nicht gleichmässig fort zu schreiten, sondern mit Rückfällen und mitunter habe ich bei einer späteren Untersuchung die Färbbarkeit grösser gefunden als bei einer früheren. Dann und wann, namentlich wo kalt erzogenen Fäden in Wasser gebrütet wurden, fanden sich die einzelnen Glieder dieser Fäden durch

ungefärbte Zwischenräume von einander getrennt, während bei einer späteren Untersuchung die Glieder sich wieder berührten. Daraus lässt sich schliessen, dass die Ausgleichung des osmotischen Gleichgewichts wellenartig erfolgt.

Bei Versuchen bei 35° erscheinen nun, etwa nach der 6en Stunde, neue Bacillen, welche sich bald durch Spaltung vermehren, und deren Vermehrung offenbar sich in dem Ergebniss der Kulturversuchen kundgiebt. Woraus diese neue Bacillen entstehen ist nicht in jedem Falle genau zu ermitteln; das gelingt nur gelegentlich wie im folgenden Versuch:

Ich hatte eine sterile Agarplatte mit einer Emulsion in Bouillon sporenfreier Milzbrandbazillen übergossen und nach kurze Zeit die Emulsion wieder abgegossen. Die Platte wurde 2 Tage lang bei 19° gebrütet. Die auf der Oberfläche entstandenen Kolonien enthielten nur lange homogene Fäden. Es wurden einige dieser Kolonien in destillirtes Wasser zertheilt und bei 35° gebrütet. Nach einer Stunde waren die Fäden scheinbar unverändert, nach zwei Stunden die meisten Fäden in kurzen Glieder zerfallen. Letzteren rundeten sich, während sie an Färbbarkeit einbüssten, allmählig ab und hatten sich nach etwa 5 Stunden in linsenförmige, unscharf contourirte Körperchen verwandelt, welche fast gar keinen Färbstoff annahmen und deren quere Durchmesser sich etwas vergrössert hatte. Taf. I Fig. 4. Nach 22 Stunden hatte ein Theil dieser linsenförmigen Körperchen das Vermögen Farbstoff aufzunehmen zurückerhalten, während sich Übergangsformen zu Bazillen so wie auch kurze gewöhnliche Bacillen zeigten. Tafel I Fig. 5.

Die nach 5 Stunden angelegt Agarplatte ergab 3 Milzbrandkolonien, die nach 22 Stunden angelegte 607.

Linsenförmigen Überreste von plasmoptysirten Bacillen sind bei diesen Versuchen keine seltene Erscheinung, nur finden sie sich zumeist vereinzelt vor. Bei dem zuletzt mitgetheilten Versuch waren sie ausnahmsweise sehr stark vertreten. Nach diesem Befund scheint mir der Schluss

erlaubt, dass die bei diesen Versuchen neu entstehenden Bacillen aus Trümmern degenerirter Bacillen entstehen, welche mit der Vermehrungsfähigkeit, das Vermögen Färbstoffe aufzunehmen wieder erlangt haben.

Noch erwähne ich einen besonderen Befund den ich mehrmals erzielte wenn ich Milzbrandbazillen in 1 oder ½ °/₀₀ nicht neutralisirter Fleischextractlösung bei 35° brütete. Es fanden sich dann nach einigen Stunden neuentstandene Bacillen, wie sie meines Wissens noch nie beschrieben sind vor, und zwar Bacillen, welche einen geschlossenen Ring bilden und einem Schleifstein ähnlich sehen. Selbstverständlich wäre bei dieser Form das Längenwachsthum ausgeschlossen, doch ist bei diesen Bacillen diese Schwierigkeit aufgehoben, indem sich in dem Ringe eine oder auch zwei Querspalten bilden. Sind zwei Querspalten da, so trennt sich der Ring in zwei Halbkreisen von denen bei der Trennung, jeder einen starken Kommabacil giebt. Öfters ist aber nur eine einzige Querspalte da. Dieselbe wird besonders bemerkbar, wenn sich die zwei durch die Spaltung getrennten Theile beim Längenwachsthum übereinanderschieben. Es entsteht dann eine Schlinge und beim Weiterwachsen vibrionenartige Formen, welche den von Petruschky beschriebenen Spirulinen ähnlich sind. Taf. II Fig. 7.

Obgleich mir die Genese dieser Producte nicht in jeder Hinsicht klar geworden ist, müssen dieselbe aus Granula entstehen. Granula bilden sich bei der Dissociation von Milzbrandbacillen häufig und zwar von verschiedenen Formen, linsenförmigen, eiförmigen und dann noch besonderen Granula, welche ich als kernförmigen aufführe. Alle sind gut färbbar, mehr oder weniger granulirt und scharf contourirt. Nur die kernförmigen zeigen gewisse Structurandeutungen und scheinen gelegentlich eine nicht färbbare Membran zu besitzen welche den unregelmässig granulirten Inhalt bekleidet. Bei meinen Versuchen hielten sich dieselbe bei der fortgesetzten Brütung unverändert, nur in vereinzelten Fällen war an dem Inhalt eine Quertheilung zu beobachten, ohne dass die zwei Hälften sich

weiter entwickelten oder auch trennten. Es sehen diese Granula Muskelkernen sehr ähnlich, nur sind sie ein wenig stärker. Taf. I Fig. 2.

Diese kernförmigen Granula, welche ich auch bei anderen plasmoptysirten Mikroben angetroffen, reizten meine Phantasie in nicht geringen Maasse und es that mir recht Leid, dass ich von der Verfolgung ihrer Naturgeschichte Abstand nehmen musste. Doch hoffe ich später diese Untersuchung wieder aufzunehmen. Jetzt beschränke ich mich auf die Mittheilung, dass sich diese kernförmigen Granula welche gewöhnlich nur spärlich vertreten sind häufiger vorfanden, wo, nach erfolgter Dissociation, die Association ausbleibt, was zu der Annahme führt, dass dieselben durch Verdichtung des im Wasser gelösten Plasmas entstehen. Es wäre das gewiss ein seltener Vorgang, allein: There are more things in heaven and earth, than are dreamt of in your bacteriology.

VI. **Die heterogene Entstehung von Milzbrandbacillen.**

In Jahre 1892 veröffentlichten Frank und Lubarsch eine gediegene Arbeit über Milzbrand ([1]) Durch sehr ausführliche Untersuchungen waren sie zu dem Ergebniss gelangt, dass bei der Impfung von Meerschweinchen die Bazillen sich zuerst an der Impfstelle vermehren. Von hier gehen sie in 's Blut über, worin sie anfänglich zerstört werden. Erst nachdem das Thier längere Zeit krank gewesen ist, die Bacillen sich an der Impfstelle stark vermehrt und hierdurch sich auch zahlreiche Zersetzungsprodukte gebildet haben, verliert das Blut diese bacterientödtende Eigenschafte und wird für dieselbe zu einem guten Nährboden worauf sie sich in kürzester Zeit ungeheuer vermehren können. Vor der 17[en] Stunde nach der Infection sind bei Meerschweinchen niemals Bacillen in Blute und den inneren Organen nachzuweisen.

Diese Arbeit war nur die Bestätigung vom dem, was

([1]) Frank u. Lubarsch Zeitschr f. Hygiene XI.

schon von vielen Forschern erkannt war, nämlich dass bei geimpften Thieren Milzbrandbazillen gewöhnlich nur kurz vor dem Tode aufgefunden werden können. Zieht man dabei in Erwägung, dass Rodet Kaninchen, welche im Ohr geimpft und denen ein Paar Stunden nach der Impfung das Ohr abgeschnitten wurde, dennoch in den meisten Fällen an Milzbrand verenden sah, so kann es nicht Wunder nehmen, dass manche Gelehrte meinten, dass die geimpften Bazillen im Thierkörper zu Grunde gehen und später aus den Zerfallsproducte derselbe neue entstehen, und dass W. Koch (¹) im Interesse der parasitären Doktrin sich veranlasst sah diese Meinung zu bestreiten, eine Meinung, die sich doch am Ende als ungefähr richtig herausstellen dürfte. Meines Wissens sind die Versuchsergebnisse von Frank und Lubarsch gar nicht beanstandet. Man hat dieselben einfach übergangen und es findet sich bei den meisten Autoren die Behauptung vor, dass während die Mehrzahl der geimpften Milzbrandpilze zu Grunde geht, vereinzelte in Capillaren stecken bleiben, wo sie, indem hier die Circulation stockt, dem zerstörenden Einfluss des Blutes fast entzogen sind und sich also leicht vermehren können. Diese Behauptung entspricht indessen nicht allen Versuchsergebnissen. Es mag derartiges bei Kaninchen vorkommen, bei Meerschweinchen trifft es gewiss nicht zu. Frank und Lubarsch, später auch Werigo (²) haben zwar gefunden, dass sich bei Kaninchen in der Milz und namentlich in der Leber während der ganzen Dauer des Infectionsprozesses Milzbrandbacillen vorfinden, nach den citirten Versuchen der erstgenannten ist dass bei Meerschweinchen entschieden nicht der Fall. Hier verschwinden die Bazillen kurz nach der Impfung und können dieselben erst gegen das tödtliche Ende der Krankheit wieder dargestellt werden. Hier kann also von einem Überleben einzelner Bacillen in Capillaren nicht die Rede sein, umsoweniger, weil es gerade die Capillaren der drüsigen

(¹) W. Koch, Deutsche Chirurgie Lief. 9. 1886.
(²) Werigo Annales Pasteur 1894.

Organen sind, in welchen man sich diese Ablagerung denkt und eben die drüsigen Organen mit negativem Erfolg auf Bacillen untersucht wurden. Hier d. h. bei Meerschweinchen, findet sich also der von W. Koch bestrittene Vorgang vor und es giebt gar keinen Grund das zu verneinen, weil der Vorgang sich beim Kaninchen anders abzuspielen scheint. Vielmehr müsste man es für möglich halten, dass, obgleich bei Kaninchen sich während des ganzen Verlaufs der Infection in den Organen immer Milzbrandbazillen vorfinden, ihre starke Frequenz in der Agonie durch die bei Meerschweinchen übliche heterodoxe Entstehungsweise zu Stande kommt.

Auch mir war öfters der Gedanke aufgestossen, dass die Ergebnisse Franks und Lubarsch kaum anders erklärt werden können als durch die von W. Koch bestrittene Meinung; nur glaubte ich, dass die kurz vor dem tödtlichen Ausgang der Krankheit erscheinende Bacillen nicht aus Zerfallsprodukten der im Anfang derselben anwesenden entstehen müssen, sondern dass die Annahme näher liegt dass diese proliferativen Formen von Milzbrandplasma aus dem milzbrandkranken Organplasma des Thieres entstehen. Es kam nun darauf an, ob dieser Vorgang experimentell verfolgt werden konnte. Hierbei erschien mir die kranke Milz das beste Versuchsobject.

Die Untersuchung der frischen Milz ergiebt bei Milzbrand nicht immer typische Resultate. Die Zahl der anwesenden Bacillen ist sehr veränderlich. Auch der Blutgehalt ist verschieden. In den meisten Fällen ist die Milz weich und schwarz mitunter jedoch mehr trocken und roth. In der Mehrzahl der Fälle nimmt dieselbe eine Zwischenstellung ein: die Milz ist vergrössert, dunkel gefärbt, mässig weich und es lässt sich ohne Mühe eine dicke blutige Flüssigkeit aus derselben herauspressen. Bei der microscopichen Untersuchung finden sich recht viele Bacillen und sehr viele Leucocyten vor, polynucleaire, mononucleaire mit deutlich erkennbaren Plasma, auch aber solche, bei denen das Plasma nicht oder nur schwierig zu erkennen ist. Bacillen und Zellen färben sich gut mit

wässrigen Lösungen von Fuchsin und Methylenblau. Mit Hämatoxylin färben sich die Kernen vorzüglich, die Bazillen und das Plasma schwächer, beide nach derselben Nuance. Nach Gram färben sich Bacillen und Kerne ähnlich und wenn beide wie gelegentlich vorkommt theilweise entfärbt werden, so findet sich bei beiden dieselbe feinste Punctirung vor.

Auffallig ist es dass die Bazillen öfters aus einer Lymphzelle hervorzutreten und mit deren Plasma verschmolzen scheinen, und doch liegen dieselben nicht immer in der Axe der Lymphzelle sondern bilden bisweilen mit dieser Axe einen Winkel. Es finden sich nun in diesen Präparaten der frischen Milz immer auch kleinere Kugeln vor, wahrscheinlich ausgetretene Leucocytenkerne die mitunter verlängert ja sogar hantelförmig sind. Diese Hantelformen sind den kurzen in der Milz so regelmässig vorkommenden Bacillen mit kolbigen Verdickungen der freien Enden sehr ähnlich. Anscheinend entstehen letztere in dieser Weise. Wenn sich dies als richtig herausstellte würde es diese eigenthümlichen Milbrandbacillen besser, als Johne's Fassung thut, erklären. Johne schrieb (¹) „Die angeblich „regelmässig an den Enden der Bakterienzellen vorhan„dene kolbige Anschwellung ist nur an denjenigen wahrnehmbar welche im Begriff sind sich zu theilen. Dieselbe werden nur vorgetauscht durch die der Theilung vorangehende Einschnürung der Zellen in der Mitte". Das kann aber nicht richtig sein, da man doch diese kolbigen Anschwellungen bei in Kulturen gewachsenen Milzbrandbazillen vermisst.

Um diese Merkmale zu beobachten ist es nothwendig, den frischen Milzsaft unverdünnt zu untersuchen, denn bei jedem Zusatz einer anderen Flüssigkeit macht sich sogleich die Osmose geltend. Noch mehr aber is das der Fall wenn man den verdünnten Saft brütet. Brütet man mit Wasser so verschwindet zunächst das Plasma der polynuclairen Zellen und werden die Bazillen bald zu Schatten

(¹) Johne Deutsche Zeitschrift f. Thiermedicin 1892.

reduzirt. Die grösseren mononucleairen Zellen werden unscharf und ihre Tingirbarheit wird abgeschwächt; die kleineren halten sich etwas länger scharf und färbbar, bis sie schliesslich ebenfalls zu unfärbbaren Schatten werden.

In Bouillon verlieren Leucocyten und Kerne bei der Brütung bald ihre scharfen Contouren und das Vermögen Färbstoffe zu fesseln. Die Bazillen vermehren sich bedeutend und es finden sich öfters Bazillen zweierlei Stärke vor. Nur wenn man nicht-neutralisirten Bouillon verwendet und diesen mit der zehnfachen Menge Wasser verdünnt, halten sich öfters die Lymphzellen resp Kerne längere Zeit färbbar.

Wo sich bei der Brütung in Wasser oder in nicht-neutralisirten verdünnten Bouillon die Kerne mehrere Tage unverändert erhalten, zeigen dieselben mitunter Sprossformen und sieht man aus denselben bisweilen einen bacillenartigen Fortsatz auswachsen, dessen Färbbarkeit für Hämatoxylen jedoch bei denen des Kerns selber zurückbleibt, der Färbbarkeit der Bazillen aber ähnlich ist. Auch im frischen Milzsaft sind fast immer derartigen Übergangsformen vorhanden jedoch nur im beschränkter Anzahl. Das hat mich lange zurückgehalten, dieselbe für Übergangsforme zu halten. Die Natur ist ja in derartigen Fällen gewöhnlich verschwenderisch; es erliegt ja immer von entstandenen Lebewesen, die Mehrheit schädlichen Einflüssen. Scheinbar ist hier von einer derartigen Verschwendung keine Rede and doch dürfte das thatsächlich der Fall sein. Ist es doch möglich, dass die vielen hier vorhandenen unfärbbaren Körner, der Osmose verfallenen Vorstufen von Microben sind. Auch nach dem Tode scheinen sich in der Milz osmotische Wirkungen abzuspielen, und finden sich im frischen Milzsaft derartigen unfärbbaren Körner vor, vielleicht weil nachdem die Circulation aufgehört hat, die Zusammenzetzung dieses Saftes sich ändert. Diese Osmose dürfte es auch erklären, dass es mir nicht gelang die Entstehung von Bacillen aus Kernen im Hängetropfen zu verfolgen. Ich versuchte das

mit $\frac{1}{10}$ nicht-neutralisirter Bouillon doch ist diese Flüssigkeit offenbar, den Kernen und Bacillen gegenüber, nicht isotonisch.

Ein unzweideutiges Resultat gab mir die microscopische Untersuchung der Milz nicht. Nur wenn ich andere Untersuchungen dabei in Betrachtung nahm konnte ich darin Anlass finden meine Vermuthung aufrecht zu halten. Ein zufälliger Befund erbrachte mir den Beweis.

Es wurde am 22 Februar die Milz einer nach 22 Stunden an Milzbrand verendeten Maus sofort ausgeschnitten und ein Stück derselben in Wasser zerrieben. Letzteres wurde bei etwa 14° im Dunklen aufbewahrt. Bei der sofort vorgenommenen microscopischen Untersuchung wurde der normale Befund constatirt.

Am 25en Februar war das Wasser klar und hatte sich ein Bodensatz gebildet. In demselben fanden sich vielen noch schwach färbbaren Bazillen und gut erhaltenen scharf contourirte und färbbare Kerne vor. Viele Kerne hatten bacillenartige Auswüchse, etwa zweimal stärker als die noch anwesenden Bacillen. Diese Auswüchse waren ziemlich gut farbbar, auch mit Hämatoxylin. Am 28en wurde constatirt dass die Auswüchse grösser geworden während ihre Anzahl abgenommen hatte. Es war hier offenbar eine Weiterentwickelung erfolgt, was um so mehr befremdlich war, weil jetzt die Tingirbarheit der entstandenen Bazillen subnormal war. In Einklang damit steht indessen die Thatsache, dass auch ihre Vermehrungsfähigkeit sehr gering war. Taf. II. Fig. 8.

Mein Journal giebt über letztere folgende Data.

22 Febr. sofort.	6000	Agkol.	
22 „ nach 4 St.	11	„	
23 „	316	„	540 Gelkol.
24 „	147	„	
25 „	79	„	241 „
27 „			93 „
1 März	1	„	27 „
4 „	200	Kokkenkol.	Verflüssigte Kokkenkol..
9 „	∞	„	„ „

Es hatte hier also bei 14°, die Temperatur, bei der der Milzbrandbacillus sich zu vermehren anfängt, eine Umwandlung von Kernen zu Bacillen stattgefunden; nur war es eine Todtgeburt und fehlte den Bacillen die Vermehrungsfahigkeit ([1]).

Dieser Beobachtung schliesst sich eine zweite an: Eine Milz wurde in 1 °/$_{oo}$ nicht neutralisirter Fleischextractlosung bei 11° digerirt. Nach 3 Tagen fanden sich scharf contourirte Kernen und schwachfärbbare agglutinirte Bacillen vor. Nach weiteren 3 Tagen waren die Bacillen verschwunden und die Kerne noch mässig scharf und färbbar. Als ich nun nach einer Woche in welcher die Temperatur bis auf 14° angestiegen war abermals untersuchte, fanden sich schwach färbbaren agglutinirten Bacillen vor und waren die Kerne in die Länge gezogen. Innerhalb derselben fanden sich vorzüglich färbbare Bazillen vor.

Es ergaben Agarkulturen:

Sogleich	1	Kolonie.
Nach 3 Tagen. .	0	„
Nach 13 Tagen .	6	„

Bei der letzten Untersuchung also am 13en Tag erwiesen sich die Kernen als so hinfällig dass sie bei der Flambirung des Deckglases zerstört wurden. Das Photogram wurde von einem nicht flambirten Glyzerinpräparat erhalten. Ein Tag später gelang das nicht mehr. Dass Jemand hier an Phagocytose denken würde ist kaum denkbar; es müssten dan nicht Zellen sondern Kernen Bazillen aufgenommen haben.

Taf. II, Fig. 9

Diese zwei Beobachtungen, namentlich die erstere scheint mir ein unzweideutiger Beweis für die Entstehung von Milzbrandbacillen aus etwas anderes als aus praeëxistirenden d. h. aus *τὶ ἕτερον*.

Schon habe ich darauf hingewiesen, dass nach der

([1]) Ich errinnere hier an die Thatsache dass ich schon 1888 zweimal aus in schwachsauren Nährlösungen entstandenen Blutgranula Bacillen erzogen habe, nur in einem dieser Fälle waren dieselbe vermehrungsfähig. Man vergleiche Taf. III Fig. 1 und 2 meiner Untersuchungen über Heterogenese III.

Einbringung von Milzbrandbazillen in Wasser, in davon angelegten Gelatinkulturen meistens mehr Kolonien entstehen wie in Agarkulturen. Es war mir diese Erscheinung befremdlich und zwar weil ich, als ich mit Milchsäurebacillen den selben Parallelversuch anstellte, gewöhnlich in beiden Nährböden die gleiche Zahl Kolonien erhielt. Anfänglich meinte ich, dass der Agar schlechter Qualität oder schlecht zubereitet sein möchte. Das war jedoch nicht der Fall. Den Agar hatte ich in Stangen aus Sumatra bezogen und es wurde derselbe Bouillon zu demselben verwendet, der auch zur Erzeugung der Gelatine diente. Als ich nun diese Erscheinung eingehend prüfte, nahm ich zweierlei wahr: Erstens dass die Unterschiede gelegentlich sehr bedeutend sein können, zweitens dass, als von derselben Wasserkultur fortgeimpft wird, der Unterschied allmählig abnimmt.

Das lehrt folgende Tabelle:

		Agar.	Gelatin.	Nach	Agar.	Gelatin.
Milzemulsion	Sofort.	139	10300	$3\frac{1}{2}$ St.	423	1600
"	"	127	15000	3 Tag. 13°	1950	3540
"	"	75	4500	1 Tag.	607	1230
"	"	19	10800	1 "	9800	11000
"	"	1	22500			
"	"	0	1140			
Bazillen	"	1320	12400	$1\frac{1}{2}$ St.	3	3
"	"	1104	14000	1 Tag.	503	945
"	"	232	9000			
"	"	10	15000			
"	"	6	14500	1 Tag.	880	1450

Allen Versuche, n° 2 ausgenommen, sind bei 35° vorgenommen.

Dass bei diesen Versuchen bei gleicher Aussaat, in Gelatin so viel mehr Kolonien entstehen als in Agar während bei Versuchen mit anderen Pilzen, die Ernte ungefähr die gleiche ist, hat mich S. 19 schon zu dem Schluss geführt dass die geläufigen Meinungen über die Entstehung der Pilze den wirklichen Sachverhalt nicht decken. Es wird zwar allgemein angenommen dass in einer Kultur die Kolonien immer nur aus den eingesäten Pilzen entstehen

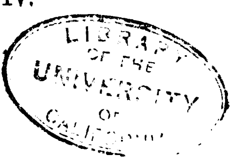
doch ist das keineswegs erwiesen und es scheint mir die hier angefürte Tabelle ein wichtiger Grund an dieser Annahme zu zweifeln. Wenn doch die Öse der Bacillenemulsion im letzten Versuch 6 Bazillen enthielt, wie war es dann möglich dass sich auf der Gelatinaplatte 14500 Koloniën entwickelten, und wenn in der Öse 14500 Bacillen vorhanden waren, weshalb bildeten sich deren dann nur 6 auf der Agarplatte?

Im Jahre 1901 habe ich darauf hingewiesen, dass sich aus saurer Milch öfters mehr Kolonien erzeugen lassen als Pilze in derselben gezählt werden können. Ich habe dafür genaue von Sybenga angestellte Zählungen angeführt. (1) Es konnte aus diesen nur der Schluss gezogen werden: es entstehen hier die Kolonien, wenigstens zum Theil, aus etwas anderem als aus praeexistirenden Bacillen. Nach diesen Versuchsergebnissen erscheint er mir erlaubt die Möglichkeit anzunehmen dass auch in Wasserkulturen von Milzsaft und von Bacillen, Kolonien aus etwas anderem entstehen können, umsomehr da die microscopische Untersuchung der Wasserkulturen das Vorhandensein von so vielen Bacillen, als in der Gelatine Kolonien entstanden, höchst unwahrscheinlich machte. Meine Ergebnisse mussen dann zu der Meinung führen, dass nur die regelmässigen Bakterien sich in Agar züchten lassen, während die Vorstufe, welche sich in der Gelatine zu Kolonien entwickeln, im Agar nicht aufgehen. Mit dieser Ansicht stimmt es auch, dass diese paradoxe Vorstufen, wenn sie sich bei der fortgesetzten Brütung nicht zu Bazillen entwickelen, während derselben zerstört werden und dadurch der sehr bedeutende Unterschied zwischen den Ergebnissen der Parallelkulturen immer kleiner wird.

Stellt man nun die Frage, woraus diese in der Gelatine mehr erscheinenden Kolonien entstehen mögen, so führe ich wieder einen meiner Versuche als Antwort an.

Es wurden 12 stündige Milzbrandbazillen in destillirtes Wasser gebracht. Sogleich nach der Einbringung wurde

(1) Untersuchungen ü. Heterogenese. IV.



eine Agarkultur (leider keine parallele Gelatinekultur) angelegt welche 525 Kolonien ergab. Bei der sofort (nach einigen Minuten) vorgenommenen microscopischen Untersuchung der frischen Kultur war schon ein Theil der Bacillen weniger färbbar und aufgeschwollen und von feinsten durch wässriger Fuchsinlösung färbbaren Partikelchen umgeben. Es war deren Lagerung derartig, dass man kaum bezweifeln könnte, dass hier das Plasma in feinsten Körnchen ausgetreten war, Taf. II Fig. 10, sich hier also eine Art Plasmoptyse vollzogen hatte. Diese Körnchen dürften es sein welche, nur in der Gelatine, im Stande sind die Entstehung von Kolonien zu veranlassen.

Derartige Körnchen hatte ich schon einige Male beobachtet, doch indem es mir stets misslang dieselben in Canadabalsam einzuschliessen hatte ich dieselbe weiter nicht beachtet. Das Photogram ist von einem Präparat in Glyzerin angefertigt.

Es muss Einem, der den microscopischen Befund der kranken Anthraxmilz mit dem der gesunden vergleicht, auffallen dass, abgesehen von den Pilzen, die Unterschiede hauptsächlich quantitativer Art sind. Auch in der normalen Milz finden sich Lymphzellen und, wenn auch in wechselnder Menge, regelmässig nackte Kerne und Körner vor. Es liegt also der Hauptunderschied in dem Pilzgehalt der kranken Milz.

Vielleicht wird man darin einen Beweis für die parasitäre Lehre sehen, doch wäre das ein Irrthum, indem ja doch die bei der Impfung eingeführten Milzbrandbacillen zu Grunde gehen, die beim Tode vorhandenen also neu entstanden sein müssen. Handelte es sich um ächte Parasiten, so müssten diese während des ganzen Krankheitsverlaufs existiren und die beim Tode vorhandenen entweder eingeführt oder in der orthodoxen Weise durch Spaltung aus den eingeführten hervorgekommen sein.

Es haben in der Medizin vom Anfang ab allerlei Ontologien geherrscht, wenngleich es immer eine Minorität von Forschern gegeben hat, die an der Albernheit dieses Begriffs Anstoss nahm. Als nun die Mikroben entdeckt

waren, haben die Gegner der Ontologie gemeint mit einer langen Nase abziehen und gegenüber einen scheinbar so gut documentirten „ὄν“ ihre Zweifel zurücknehmen zu müssen. Wo es sich aber ergeben hat, dass diese Documentirung nicht durch den Sachverhalt gedeckt wird, muss die Frage, ob der ontologische Krankheitsbegriff richtig ist oder ob die Krankheiten nur abgeänderten physiologischen Prozessen sind, wieder auf den Vordergrund treten. Darüber kann der microscopische Befund der Milz nicht entscheiden, indem es ja möglich ist dass physiologisch die Kerne der Lymphzellen zu Grunde gehen, wahrend pathologisch aus denselben Mikroben entstehen.

Vielleicht spricht die Thatsache, dass, obgleich in Kulturen der normalen Milz gewöhnlich keine Kolonien aufgehen, mikroscopisch in derselben manchmal Microben aufgefunden werden können, gegen den ontologischen Krankheitsbegriff. Ich habe diese Thatsache schon in 1882 betont (1) nachdem ich 1880 eine Beobachtung veröffentlichte, die in dieser Hinsicht interessant scheinen dürfte (2).

Ich hatte eine frische Hausmaus unter der Klappe meiner Mäusefalle geklemmt gefunden. Dieselbe war schwer verletzt und wurde am nächsten Tage todt aufgefunden. Es ergab sich nun dass die Milz, die Leber und das Blut massenhaft Stäbchen enthielten, welche, obgleich ihnen die Virulenz abging, Milzbrandbazillen vollkommen ähnlich waren. In Blutserum wuchsen diese Bacillen zu langen sporenträgenden Fäden. aus.

Aus diesen Mittheilungen zu schliessen, das auch ohne stattgefundener Infection aus Kernen Mikroben entstehen können, wäre übereilt: das Problem erfordert eine gewissenhafte Untersuchung Dennoch scheint mir das angeführte hinreichend zur Behauptung, das der microscopische Befund der milzbrandkranken Milz sich mit den von mir betonten Ansicht verträgt.

---

(1) Fokker Virchow's Arch. Bd. 88.

(2) Fokker, Nederl. Tijdschr. v. Geneeskunde 1880.

Nachschrift.

Ich weiss, dass nur der experimentelle Nachweis, dass man durch Zusammenbringung dissoziirter Mikroben Artvariationen künstlich darstellen kann, meine Hypothese beweisen würde und es versteht sich, dass ich das versucht habe. Die Versuche sind noch im Gange und ich ziehe es vor mit der Mittheilung meiner Ergebnisse zu warten, bis ich den vollständigen Beweis zu liefern im Stande sein werde. Wenn mir desshalb der Vorwurf gemacht werden dürfte, dass meine Arbeit nicht beendet, so würde ich mir das ruhig gefallen lassen; denn ich bin mir stets bewusst gewesen, dass die vollständige Ausarbeitung meiner Hypothese mehr als die Krafte eines einzelnen in Anspruch nimmt und demnach, so lange nicht Andere mir ihre Mitwirkung gewähren, diese Ausarbeitung lückenhaft bleiben muss. So wäre ich schon zufrieden, wenn ich meine Fachgenossen überzeugen könnte, dass der von mir vorgeschlagene Weg der richtige ist und dieselben dazu anregen könnte, statt der ersten die zweite Henle'sche Hypothese zu verfolgen.

Es trifft in keiner Wissenschaft des bekannte Wort: Die Wissenschaft ist eine steinerne sonnenbeschienene Pyramide deren Fuss und Spitze sich im Gewölbe des Glaubens verlieren" besser zu als in der Bakteriologie. Für den Augenblick kann man die Verwerfung der Spontangeneration den Fuss, den Parasitismus die Spitze dieser Wissenschaft nennen. Beides ist Glaubenssache. Wäre solches ein Fatum, so dürfte es sich doch lohnen einen falschen Glauben durch einen, der wahr sein mag, zu ersetzen.

Dass der Fuss der jetzigen Wissenschaft falsch ist, dass eine Spontangeneration nothwendig auf unserer Erde stattgefunden haben muss, ist unverkennbar. Wer sich durch die Schüler Pasteurs das Gegentheil aufbinden lassen hat, der soll die kurze, logische Darstellung L. Errera's (1),

---

(1) L. Errera, Essais de Philosophie botanique II 1900 Lamertin Bruxelles.

das vernünftigste was über diese Frage je geschrieben ist, nachlesen. Errera schliesst mit den Worten die Spontangeneration sei „un inéludable postulat mais encore irréalisée dans nos laboratoires, peut-être encore irréalisable. Diesem schliesse ich mich, der ich ja 20 Jahre an der Heterogenese, d. h. an der Entstehung, um in der Altmann'sche Terminologie zu bleiben, von Autoblasten aus Cytoblasten gearbeitet habe, vollständig an.

Dass die Spitze der Bakteriologie, die Auffassung der Mikroben als Parasiten, falsch ist, das habe ich in meiner jetzigen Schrift betont. Doch ist die von mir beschriebene, künstliche Transformation bestimmter Microben realisirbar, und es kommt nur darauf an die Bedingungen, unter denen dieselbe erfolgt aufzufinden Das dürfte noch eine schwierige Arbeit sein. Die Natur versteht es viel besser derartige Transformationen zu Stande zu bringen als wir es verstehen die erförderliche Bedingungen zu ermitteln und nachzuahmen. Dennoch erwarte ich, wenn meine Arbeitskraft mich nicht im Stiche lässt, diesen Beweis fertig zu bringen und würde es mich sehr freuen, wenn Andere mich dabei ihre Unterstützung nicht versagten.

TAFELERKLÄRUNG.

Fig. I. Milzbrandbazillen während 2 Stunden in Wasser gebrütet.

„ II. Bei 19° auf Agar erzogene M B durch 3 Stunden in Wasser gebrütet, mit einem kernförmigen Granulum.

„ III. Kalterzogene M B Fäden 24 Stunden in Wasser gebrütet.

„ IV. Kalterzogene M B Fäden 5 Stunden in Wasser gebrütet.

„ V. Dieselbe Fäden nach 22 stündiger Brütung.

„ VI. Kalterzogene M B Fäden 24 Stunden in Wasser gebrütet. Bazillen zweierlei Stärke.

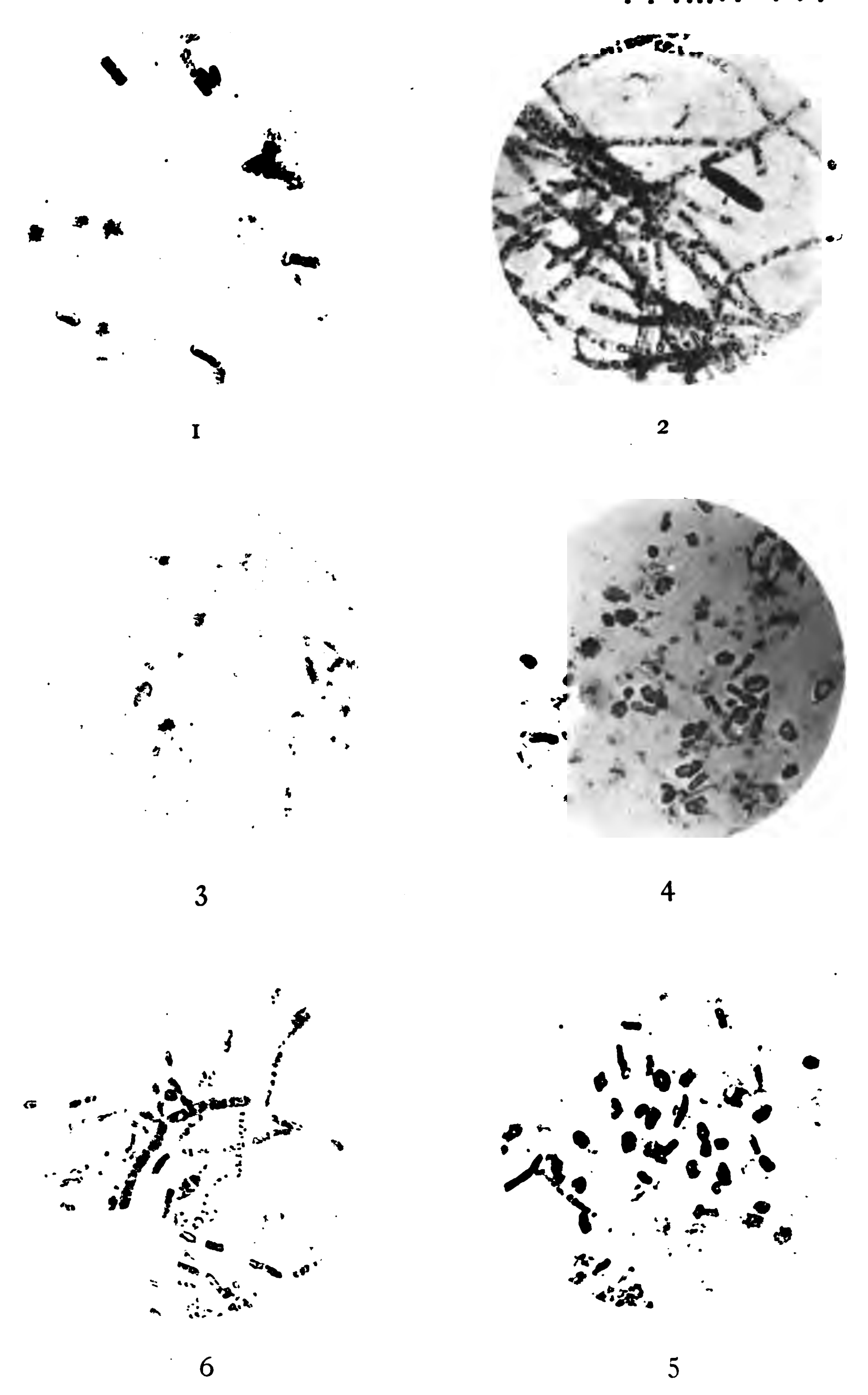
„ VII. Milzemulsion in 1 °/₀₀ nicht neutralisirter Bouillon, 6 Stunden gebrütet.

„ VIII. Wässerige Milzemulsion 10 Tagen bei 13°—14° digerirt; Übergangsformen von Kernen zu Bacillen.

„ IX. Wässerige Milzemulsion, Die Temperatur schwankte während der 13 tägigen Digestion zwischen 11° und 14°. Kerne mit Bazilleneinschlüsse.

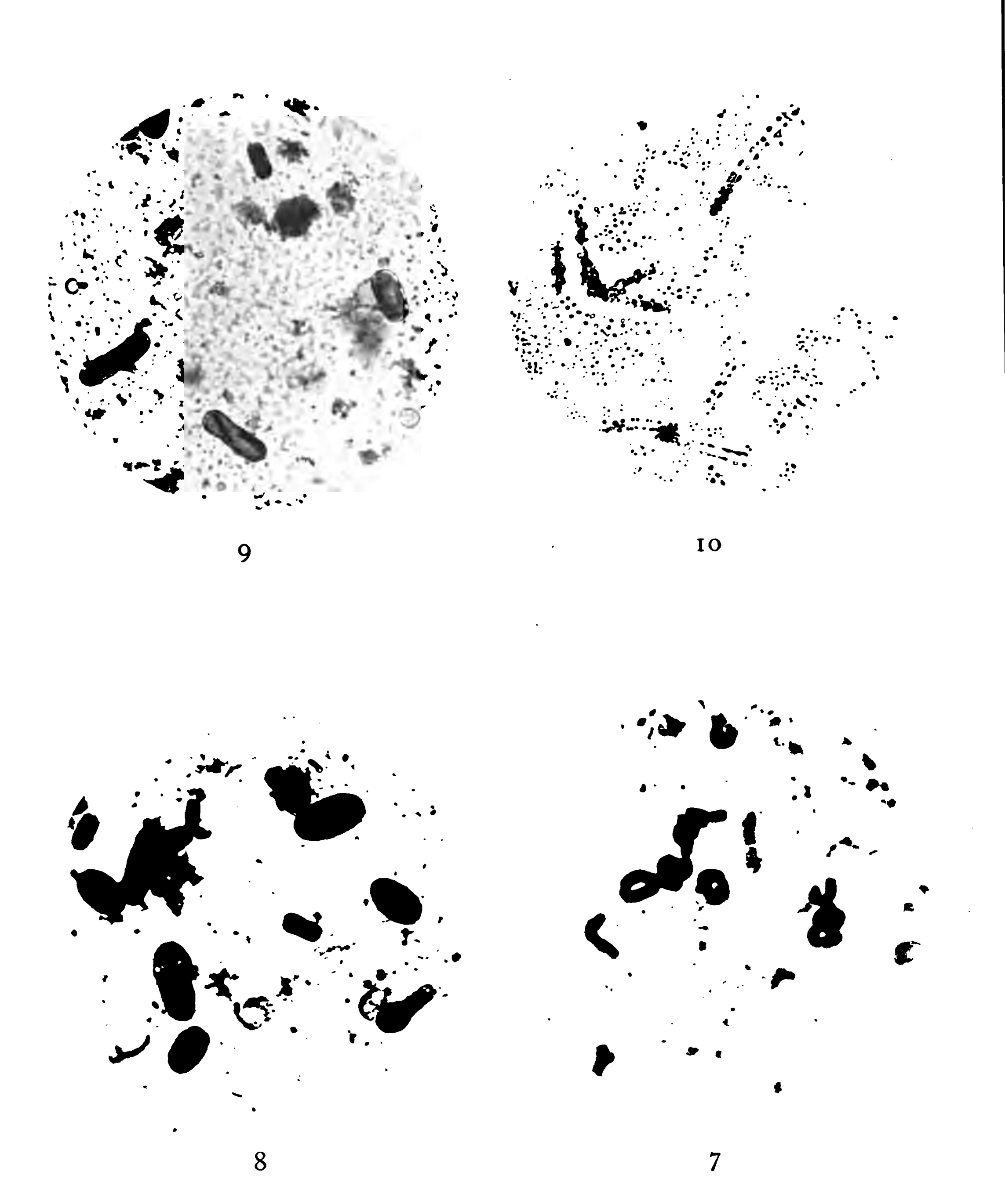
„ X. Milzbrandbacillen in destillirtem Wasser 5 Minuten nach der Einbringung, feinkörnige Plasmoptyse.

Sämmtliche Photogrammen sind bei 1100 malige Vergrösserung vorgenommen, ich verdanke dieselbe meinem Assistenten Herrn C. G. Schoneboom. Die Präparate mit wässeriger Fuchsinlösung gefärbt.



Tafel I.

Lichtdruk van H. KLEINMANN & Co., Haarlem.



Tafel II.

Lichtdruk van H. KLEINMANN & Co., Haarlem.

